ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

ANNÉE 1971 — N° 87

Recherche de l'infection toxoplasmique du chien par la méthode d'immunofluorescence indirecte

---

THESE

POUR LE DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

(DIPLOME D'ÉTAT)

Présentée et soutenue publiquement en décembre 1971

DEVANT

L'UNIVERSITÉ PAUL-SABATIER DE TOULOUSE

PAR

MARTIN Christian, Marie, Gilbert

Né le 11 Novembre 1947 à SARRELOUIS (Sarre) Allemagne

Jury :

Président — Mme LARENG, Professeur à l'Université Paul-Sabatier de Toulouse

Assesseurs — M. BRIZARD Professeur à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse
M. LAUTIE, Professeur à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse

TOULOUSE
IMPRIMERIE DU VIGUIER
6, rue Ninau, 6
—
1971

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41536510_0068

Recherche de l'infection toxoplasmique du chien par la méthode d'immunofluorescence indirecte

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

ANNÉE 1971 — No 87

Recherche de l'infection toxoplasmique du chien par la méthode d'immunofluorescence indirecte

---

THESE

POUR LE DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

(DIPLOME D'ÉTAT)

Présentée et soutenue publiquement en décembre 1971

DEVANT

L'UNIVERSITÉ PAUL-SABATIER DE TOULOUSE

PAR

MARTIN Christian, Marie, Gilbert

Né le 11 Novembre 1947 à SARRELOUIS (Sarre) Allemagne

— ▬ —

Jury :

Président — Mme LARENG, Professeur à l'Université Paul-Sabatier de Toulouse

Assesseurs — M. BRIZARD Professeur à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse

M. LAUTIE, Professeur à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse

TOULOUSE

IMPRIMERIE DU VIGUIER

6, rue Ninau, 6

—

1971

MINISTERE DE L'AGRICULTURE

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directeur ..... M. FLORIO
Directeurs Honoraires .. MM. PONS
DARRASPEN

Proresseur Honoraire: M. LOMBARD

PERSONNEL ENSEIGNANT

Chaire de Pharmacie et Toxicologie :
Professeur titulaire ..... M. GODFRAIN
Maître-Assistant ..... Mme BURGAT-SACAZE
Pharmacie et Toxicologie

Chaire de Physique et Chimie Biologiques et Médicales :
Professeur titulaire ..... M. RICO
Physique biologique et médicale
Chimie biologique et médicale

Chaire d'Anatomie des Animaux Domestiques :
Professeur titulaire ..... M. PAVAUX
Anatomie descriptive - Extérieur
Anatomie appliquée - Tératologie

Chaire de Physiologie et Thérapeutique :
Professeur titulaire ..... M. RUCKEBUSCH
Maître-Assistant Agrégé .. M. FARGEAS
Physiologie - Thérapeutique et Pharmacodynamie

Chaire d'Histologie - Anatomie Pathologique :
Professeur titulaire ..... M. VAN HAVERBEKE
Maître de Conférences, non chef de Service, Prof. sans Chaire ..... M. CABANIE
Maître-Assistant ..... M. MAGNOL
Histologie - Embryologie - Anatomie Pathologique

Chaire d'Hygiène et Industrie des Aliments d'origine animale :
Professeur titulaire ..... M. LABIE
Maître-Assistant ..... M. EECKHOUTTE
Hygiène, Inspection, Contrôle et Technologie des denrées alimentaires d'origine animale

Chaire de Parasitologie et Maladies Parasitaires :
Professeur titulaire ..... M. BRIZARD
Maître-Assistant Agrégé .. M. DORCHIES
Zoologie appliquée - Parasitologie externe
Parasitologie interne - Clinique

Chaire de Sémiologie et Pathologie Médicale des Equidés et Carnivores :
Professeur titulaire ..... M. FLORIO
Maître de Conférences, non Chef de Service, Prof. sans Chaire ..... M. LESCURE
Maître-Assistant ..... M. GUELFI
Sémiologie et Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores - Législation Vétérinaire et Déontologie Clinique

Chaire de Pathologie Médicale du Bétail et des animaux de basse-cour :
Professeur titulaire ..... M. TOURNUT
Maître de Conférences, non chef de Service, Prof. sans Chaire ..... M. ESPINASSE
Maître-Assistant .... M. BEZILLE
Sémiologie et Pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour - Clinique
Clinique ambulatoire

Chaire de Pathologie Chirurgicale :
Professeur titulaire ..... M. CAZIEUX
Propédeutique et Sémiologie chirurgicale
Technique chirurgicale - Pathologie chirurgicale
Podologie - Clinique

Chaire de Pathologie de la Reproduction :
Professeur titulaire ..... M. BERTHELON
Maître de Conférences, non Chef de Service, Prof. sans chaire ..... M. ROYAL
Sémiologie et propédeutique
Pathologie de la Reproduction
Obstétrique - Clinique

Chaire de Maladies Contagieuses - Zoonoses - Législation Sanitaire :
Professeur titulaire ..... M. SAURAT
Maître-Assistant Agrégé.... M. CHANTAL
Maladies Contagieuses - Zoonoses
Législation Sanitaire

Chaire de Pathologie Générale - Microbiologie - Immunologie :
Professeur titulaire ..... M. LAUTIE
Maître Assistant ..... M. MEIGNIER
Microbiologie - Immunologie
Pathologie Générale

Chaire de Zootechnie et Economie Rurale :
Professeur titulaire ..... M. QUEINNEC
Maître-Assistant ..... M. DARRE
Ethnologie - Génétique appliquée - Hygiène Générale
Zootechnie - Elevage - Economie Générale et des productions animales

Chaire d'Alimentation :
Professeur titulaire ..... M. FALIU
Maître-Assistant Agrégé .. M. GRIESS
Botanique appliquée et Bromatologie
Agronomie - Alimentation

COURS COMPLEMENTAIRES
CHARGES D'ENSEIGNEMENT

Antibiothérapie des Maladies infectieuses ..... M. MONNIER
Aspect médical des Zoonoses ..... M. ARMENGAUD
Energétique ..... M. LABOUCHE
Initiation à l'informatique biomédicale ..... M. FERNET
Agronomie ..... M. COMBRET
Métabolismes ..... M. RAYNAUD

La Faculté et l'Ecole déclarent n'être pas responsables des opinions émises par les candidats (Délibération de la Faculté, en date du 10 mai 1891 et du Conseil de l'Ecole, en date du 13 juin 1924)

A LA MEMOIRE DE MA MERE

disparue avant d'avoir pu se réjouir de l'aboutissement des sacrifices qu'elle s'était imposés pour moi.

En témoignage de mon amour filial.

A MON PERE

dont le courage ne saurait trouver dans ce travail qu'un modeste reflet.

En témoignage de ma profonde affection et de toute ma reconnaissance.

A TOUTE MA FAMILLE

A Monsieur le Docteur Vétérinaire Roger VARVOUX
et Madame

en gage de notre sincère amitié.

A TOUS MES AMIS

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Madame le Professeur LARENG

de l'Université Paul-Sabatier de Toulouse

qui nous a fait le grand honneur d'accepter la présidence de notre Jury de Thèse.

Hommages respectueux.

A NOTRE JURY DE THESE

Monsieur le Professeur BRIZARD

de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,
Chevalier de la Légion d'Honneur

qui nous a inspiré le sujet de cette Thèse. Qu'il trouve ici l'expression de nos vifs remerciements pour l'accueil bienveillant qu'il a réservé à notre travail et les précieux conseils qu'il nous a prodigués.

Monsieur le Professeur LAUTIE

de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Chevalier de l'Ordre National du Mérite

que nous remercions d'avoir bien voulu accepter de faire partie de notre Jury de Thèse.

A Monsieur DORCHIES

Maître-assistant agrégé de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

pour l'aide très précieuse qu'il nous a amicalement apportée tout au long de l'élaboration de ce travail.

A Madame DELORME

de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

dont l'aimable collaboration nous a été utile pour la mise en évidence des résultats.

A Madame CARRIERE

de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

dont nous avons apprécié la gentillesse et la compétence.

A TOUS NOS MAITRES
DE L'ECOLE NATIONALE VETERINAIRE
DE TOULOUSE

INTRODUCTION

La Toxoplasmose est une maladie parasitaire de type infectieux, virulente, inoculable et contagieuse, due à un parasite unicellulaire : Toxoplasma gondii.

Il s'agit d'une parasitose très fréquente et généralement bénigne, voire inapparente, qui frappe l'Homme et de nombreux mammifères, les oiseaux et les reptiles. Elle est signalée sur tous les continents.

De symptômatologie protéiforme, cette maladie garde toute son importance, car même si sa forme acquise est assez discrète, l'infestation de la femelle gestante pourra se traduire chez son produit par une Toxoplasmose congénitale de pronostic toujours sévère.

Quand nous aurons mis en parallèle l'infestation de l'Homme, pour laquelle les enquêtes sérologiques traduisent une fréquence de 60 à 90 % à 30 ans, et celle du chien qui, par les mêmes procédés, accuse des taux de 40 à 72 %, il ne sera pas inutile, en tenant compte des rapports qui existent entre cet animal et son maître, de présenter le bilan de nos connaissances actuelles sur cette maladie, qui intéresse aussi bien le Médecin que le Vétérinaire.

Une découverte toute récente donne un intérêt nouveau à cette anthropozoonose. Le cycle du Toxoplasme vient d'être décrit et il éclaire beaucoup de points obscurs touchant la transmission du parasite. En effet, la façon dont ce protozoaire fragile a pu se répandre dans le monde entier, chez les animaux et chez l'Homme, restait un mystère. On connaissait la transmission congénitale par voie placentaire, les contaminations accidentelles lors de manipulations de parasites ou de viscères infectés, et le rôle du carnivorisme dans la maladie animale et humaine. Mais on ignorait toujours comment les oiseaux et les her-

bivores contractaient la Toxoplasmose. Cette énigme est maintenant résolue.

Après un bref rappel sur l'historique de la maladie et l'étude de quelques notions de parasitologie dans une première partie, nous accorderons une attention particulière au diagnostic immunologique en donnant d'abord les grandes lignes de la technique utilisée et ensuite les résultats obtenus.

HISTORIQUE

L'histoire de la Toxoplasmose peut être divisée en deux grandes périodes :

— une période de « curiosité parasitologique » allant de 1908 (date de la découverte de l'agent causal) à 1937, période pendant laquelle le rôle pathogène de cet organisme n'est jugé que de faible intérêt médical ;

— une période d'étude pathogénique et immunologique rendue possible grâce à la mise au point des techniques sérologiques à partir de 1937.

Quoique de tels organismes aient été, semble-t-il, déjà vus et décrits dès 1898 par ZIEMANN chez le Pinson et par LAVERAN en 1900 chez le Calfat, c'est en 1908 que NICOLLE et MANCEAU au cours d'une étude sur les « Corps de Leishman » à l'Institut Pasteur de Tunis isolent pour la première fois le parasite. Apparemment voisin de Leishmania Canis, ils lui donnent le nom de Toxoplasma gondii.

— Toxoplasma (du grec toxon = arc et plasma = formation) à cause de sa forme fréquemment incurvée.

— Gondii car c'est d'un petit rongeur de cette région, le gondi (Ctenodactilus Gondi), qu'ils le mirent en évidence à partir de frottis de rate et de foie.

A partir de cette date, de très nombreuses observations ont été rapportées. Dès l'année suivante, SPLENDOR (49), au Brésil, isole d'un lapin mort de cachexie des organismes morphologiquement voisins de ceux de NICOLLE et MANCEAU, auxquels il donne le nom de Toxoplasma cuniculi.

En 1910, Ugo MELLO à Turin (36) observe le premier cas de Toxoplasmose canine spontanée. En 1914, CASTELLINI (7) décrit le premier cas humain, qui ne fut d'ailleurs confirmé qu'*a posteriori*, et le parasite reçut alors le

nom de Toxoplasma pyrogenes. En 1916, CARINI et MIGLIANO, au Brésil, trouvent encore un même parasite sur un cobaye et le baptisent Toxoplasma caviae. Les descriptions se multiplient ainsi dans toutes les régions du monde et sur de multiples espèces animales domestiques et sauvages, ce qui a valu à ce protozoaire autant de dénominations sans qu'en fait leur validité fût bien établie, et en 1918, on pouvait déjà en dénombrer 24 ; cela fait conclure à MESNIL (37) « qu'il n'existe qu'une seule et même espèce de Toxoplasmes ayant plusieurs hôtes ». En 1937, HERMAN confirmait cette hypothèse par des inoculations croisées aussi bien sur des mammifères que sur des oiseaux.

Cependant nous n'en sommes toujours qu'à une connaissance parasitologique et épidémiologique de cette affection, bien qu'une ébauche d'études sérologiques de l'infection toxoplasmique expérimentale fut entreprise en 1914 par SARRAILHE (45) puis continuée en 1928 par LEVADITI et ses collaborateurs (31 et 32). Il faudra attendre les travaux de SABIN et OLITSKY (44) pour donner un nouvel élan à l'intérêt tout secondaire que l'on accordait jusqu'alors au rôle pathogène de ce parasite.

Aux Etats-Unis en 1937, ces deux auteurs isolent à partir d'un cobaye une souche hautement virulente pour d'autres espèces animales et qui se révèle être intracellulaire et inoculable par de nombreuses voies. Deux ans plus tard, WOLF, COWEN et PAIGE (53) découvrent dans le cerveau d'un enfant nouveau-né, mort d'encéphalite congénitale, la même souche que celle mise en évidence par SABIN.

L'étiologie générale des Toxoplasmoses nous apparaît dès lors sous un nouveau jour, ces deux observations prouvant la commune origine des Toxoplasmoses humaines et animales. Des préparations histologiques conservées permirent *a posteriori* d'établir le même diagnostic, montrant que ces encéphalopathies d'étiologie inconnue pouvaient être attribuées à une infection toxoplasmique ignorée, et mettant du même coup en évidence la gravité de la Toxoplasmose humaine congénitale. Enfin cette découverte nous renseignait sur le rôle non négligeable joué par les différentes espèces animales commensales de

l'Homme qui se trouvent être pour celui-ci la source majeure de contamination.

A partir de ce moment, de nombreux travaux expérimentaux ont été menés pour parfaire notre connaissance de la maladie. Signalons seulement ici l'excellente revue d'ensemble sur ce sujet publiée en 1964 par BARTORELLI et BÉRENGO (4), qui contient plus de 2 500 références bibliographiques. Des techniques nouvelles ont été imaginées, en dehors de l'isolement du parasite, pour diagnostiquer facilement et rapidement la Toxoplasmose. Mentionnons surtout les diagnostics sérologiques comme la fixation du complément de NICOLLEAU et collaborateurs, le test de lyse ou « dye-test » de SABIN et FELDMAN (1948), l'immunofluorescence de GOLDMAN (1957) et l'hémagglutination de MALONEY et KAUFMAN (1960).

Ces épreuves sérologiques permettant le dépistage facile de la Toxoplasmose amènent DESMONTS à la conclusion surprenante que : « Le problème de la Toxoplasmose est l'inverse de celui que posent les autres maladies infectieuses : ici, le laboratoire est au premier plan, la connaissance clinique vient ensuite. Ce n'est pas une maladie connue dont on recherche les signes biologiques, c'est une infection biologiquement prouvée dont on recherche les symptômes » (13).

PREMIERE PARTIE

LE TOXOPLASME ET LA TOXOPLASMOSE

I. — *RAPPELS DE PARASITOLOGIE.*

Après une description succinte du parasite, nous insisterons davantage sur la biologie de celui-ci, étude nous paraissant indispensable à la bonne compréhension des modalités de contamination et du pouvoir antigène et toxinigène qui lui sont conférés.

Morphologie

Les Toxoplasmes sont des êtres unicellulaires de 6-7 μ de long sur 2-3 μ de large, constitués d'une membrane cellulaire fine et élastique limitant une masse cytoplasmique dans laquelle baigne un noyau ovalaire pouvant atteindre le tiers du volume cellulaire. La morphologie varie avec l'âge et le mode d'examen.

1° *L'âge :*

— Juste après division, un Toxoplasme se présente comme un croissant dont une extrémité serait effilée et l'autre arrondie. Il n'y a pas de membrane et le noyau représente souvent un tiers du parasite.

— Lorsque le Toxoplasme a grandi, il a perdu sa forme générale incurvée pour prendre celle d'une goutte d'eau. Poursuivant son évolution, il passera par une forme ovalaire avant de s'arrondir pour se diviser.

2° *Le mode d'examen :*

— A l'état frais, le Toxoplasme reste très réfringent et ne laisse voir aucun détail de son protoplasme.

— Sur une coupe histologique il est de taille moitié moindre que sur frottis et, suivant la technique de fixation, il apparaît plus ou moins arrondi (Zencker) ou en forme de croissant (formol).

— Ludvik (33) en 1958 fit appel au microscope électronique pour préciser la structure de Toxoplasma gondii et mettre en évidence conoïde et toxonèmes qui constituent respectivement les appareils de pénétration et de sécrétion.

Localisation

Le Toxoplasme est toujours parasite de cellules nuclées, encore qu'il puisse circuler dans le sang ou la lymphe sous forme végétative libre pendant une courte période (on ne le voit jamais dans les globules rouges). On le rencontre partout, mais surtout dans le système réticulo-endothélial et musculaire ainsi que dans le système nerveux central et ses annexes comme la rétine. Il se multiplie plus ou moins activement selon sa virulence.

Biologie

1° *Motilité :*

Toxoplasma gondii ne possède ni cil ni flagelle. Les travaux de Garin (16), complétés au microscope électronique par ceux de Bartorelli et Bérengo (4), ont permis de mettre en évidence qu'il était animé de mouvements divers :

— des mouvements ondulatoires des parois qui progressent de l'extrémité arrondie vers l'extrémité pointue ;

— des mouvements de masse autour de l'extrémité arrondie fixe ;

— des mouvements de l'extrémité effilée transformée en dard.

De telles observations permettent d'expliquer les déplacements du parasite dans le milieu extérieur et surtout sa possibilité de pénétrer dans une cellule hôte pour s'y multiplier, en sortir sans qu'il y ait nécessairement éclatement de celle-ci.

2° *Multiplication :*

Toxoplasma gondii se multiplie par scissiparité binaire longitudinale à l'intérieur de la cellule hôte : après division du noyau, chaque moitié entraîne une partie du protoplasme ;

— une souche très virulente se multiplie en 24 à 36 heures en faisant éclater les cellules. Le parasite libéré (tomonte) envahit alors une autre cellule et le phénomène se renouvelle ;

— une souche moins virulente se multiplie sans faire éclater la cellule hôte et chaque cellule fille se remultiplie. On a ainsi formation d'un pseudokyste qui peut atteindre 30 à 40 microns de diamètre (appelé ainsi car la membrane n'est ni réactionnelle, ni sécrétée par le parasite).

Chaque pseudokyste peut contenir des dizaines et même des centaines de parasites qui y sont étroitement accolés et de forme arrondie. En 1947, Barnes Cross appelle « colonies terminales » ces formations réduites à la paroi cellulaire hôte et contenant les parasites, car ceux-ci y restent inactifs pendant un temps infini puisque l'auteur a montré, par le test de Feulgen, qu'il y avait diminution de la perméabilité de la membrane, ce qui entraînait la protection du Toxoplasme contre les anticorps ou les agents thérapeutiques. Bien qu'ils soient considérés comme moins dangereux que les formes libres, ils sont cependant capables de provoquer une infection toxoplasmique mortelle lorsqu'ils sont injectés à des organismes sensibles et neufs.

Certains auteurs (49 - 9 - 16) ont voulu voir dans cette multiplication sous forme pseudokystique une Schizogonie vraie telle qu'on l'observe dans la phase asexuée du cycle évolutif des Coccidies avec formation de plasmodes véritables. Goldman et collaborateurs (19) décrivent une multiplication par « endodyogénie » : le noyau bourgeonnant se divise lui-même et on obtient deux cellules filles.

3° *Cycle évolutif :*

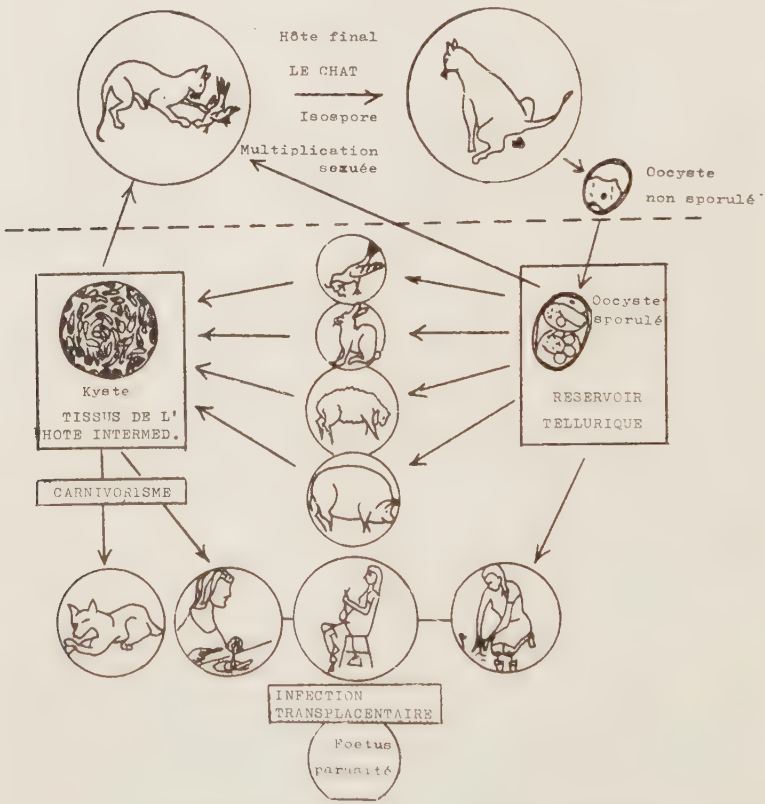
Jusqu'à ces dernières années il présentait des inconnues, mais plusieurs auteurs ont montré qu'il s'agirait de Coccidies du Chat et que le cycle est donc celui des Coccidies (14). Ceci explique en grande part la transmission de la Toxoplasmose. (Voir le schéma page suivante).

Les toxoplasmes ingérés pénètrent dans les cellules épithéliales de l'intestin grêle du chat. Il y a d'abord schizo-

gonie, puis évolution des schizontes en gamètes : macrogamètes et microgamètes. Leur conjugaison forme un ookyste qui est éliminé avec les matières. La sporogonie se fait dans le milieu extérieur, sur le sol humide, à température favorable et en présence d'oxygène (d'où un délai de 2 à 4 jours avant que les matières deviennent infectantes). Chacun des 2 sporocystes de l'ookyste contient alors 4 sporozoïtes. Si ces sporocystes sont ingérés par un hôte homéotherme autre qu'un chat, les sporozoïtes deviennent des mérozoïtes (Toxoplasmes) susceptibles de multiplication asexuée et de survie, enkystés dans les tissus de cet hôte où ils attendent d'être à nouveau ingérés par un chat.

Cycle sexuel du Toxoplasme

(La Presse Médicale. 27 fév. 1971, p. 473)



Ce cycle sexué n'a pu jusqu'à présent être observé que dans l'intestin grêle du chat. Il semblerait donc que ce soit un parasite spécifique de cet animal. Il faut donc rechercher les relations des Toxoplasmes et des microorganismes voisins avec d'autres isospores et savoir si les Toxoplasmes peuvent ou non réaliser un cycle sexué aboutissant à l'ookyste dans l'intestin d'autres animaux que le chat. Jusqu'à présent, ces investigations se révèlent négatives, mais il serait surprenant que le chat restât solitaire et que les autres félins, et d'autres carnivores peut-être, ne le rejoignent pas bientôt.

En revanche, la forme asexuée (le Toxoplasme proprement dit) est dénuée de spécificité parasitaire : tous les homéothermes peuvent l'héberger et servir d'hôtes facultatifs. De plus, le mérozoïte peut se transmettre par voie transplacentaire, par inoculation directe ou par carnivorisme, d'où l'extrême diffusion de l'infection.

4° *Les conditions de sporogonie :*

La maturation et la survie de l'ookyste nécessitent un milieu humide et une bonne aération. La sporogonie est d'autant plus rapide que l'aération est meilleure. La sporogonie s'effectue même en présence de désinfectants tels que l'acide chlorhydrique à 1 %, l'acide sulfurique à 1 à 5 %, le bichromate de potassium à 2,5 %, l'alcool à 20 % et le mélange d'alcool et d'éther 10 %. A ces concentrations, ces produits arrêtent le développement des bactéries et des champignons et favorisent de ce fait la sporogonie : ainsi le pouvoir infectant est dix à cent fois plus élevé quand les matières sont incubées dans ces corps que lorsqu'elles sont gardées dans l'eau. Par contre, le formol inhibe la sporogonie : une concentration de 0,3 % l'arrête complètement.

5° *Résistance :*

« La résistance du parasite à l'état libre est faible. Il ne supporte pas la dessication ; il est tué en 10 minutes à 60° C. et en quelques minutes par les antiseptiques usuels. Par contre, le liquide d'ascite de la souris malade reste infestant à trois semaines et les parasites congelés dans la glycérine conservent très longtemps leur virulence, jusqu'à 209 jours. Le suc gastrique détruit les

Toxoplasmes en 10 minutes mais les formes enkystées résistent mieux à cette action ainsi qu'à celle de la chaleur. » (A. Vallée - 51).

D'un point de vue pratique, retenons que le pouvoir infectant d'un Toxoplasme est de faible durée. Celui-ci ne résiste pas plus de 48 heures à la température normale mais peut être conservé vivant pendant 14 jours à 5° C.

En revanche, une fois développés, les sporozoïtes conservent très longtemps leur pouvoir infectant : plus de 1 an en milieu aqueux et plus de 30 jours à sec, si l'humidité atmosphérique est de 100 %. Par contre, ils supportent mal la dessication si l'atmosphère ambiante est plus sèche : ils ne survivent que 7 jours si l'humidité ambiante est de 58 %, et que 3 jours si l'humidité atmosphérique est de 37 %. La résistance des sporocystes à la chaleur est assez faible, du même ordre que celle des kystes musculaires : 30 minutes à 55 ° C. suffisent à les stériliser. En revanche, leur résistance aux ferments protéolytiques, aux acides, aux bases (ammoniaque exceptée) et aux détergents usuels est considérable et très supérieure à celle des kystes.

6° *Virulence :*

La virulence d'une souche de Toxoplasmes est donnée par le moyen d'épreuve de laboratoire sur la souris. Chaque groupe de souris étant inoculé par un nombre connu de parasites viables, on calcule la proportion de souris mortes par rapport aux souris inoculées et le nombre de jours écoulés entre inoculation et mort.

Les souches virulentes pour la souris le sont pour le lapin, le cobaye, le pigeon, mais à des degrés moindres.

On peut augmenter la virulence par passages en série, mais on peut aussi affecter la virulence en passant d'un hôte à température centrale élevée à un autre dont celle-ci est plus faible.

Ce qui est vrai pour les animaux de laboratoire ne l'est pas forcément pour les autres espèces : porcelets, chiens, moutons et autres animaux adultes résistent à la maladie tout en étant infectés par le Toxoplasme. Donc il faut rechercher l'existence de maladies concomitantes avant

d'accuser ce parasite : ankylostomiase, maladie de Carré, etc. Cependant, des souches à pouvoir pathogène pourtant faible ont été isolées dans des avortements de brebis.

Position systématique du Toxoplasme

Elle reste douteuse : on admet avec les travaux de Sabin et Olitsky en 1937 que le genre Toxoplasma ne comporte qu'une seule espèce : Toxoplasma gondii.

C'est un protozoaire qui se rapproche des Sarcosporidies (34) par des caractères généraux et des réactions sérologiques et aussi des Encéphalitozoon, dont il se différencie (28) par la forme et la taille, l'aspect des kystes, par des réactions chromatiques et le pouvoir pathogène.

Tout récemment, l'importante découverte du cycle naturel du Toxoplasme a permis de conclure que ce parasite était en fait un stade de l'évolution d'une Coccidie, celle-ci étant capable de reproduction sexuée et de multiplication. De plus, l'ookyste du Toxoplasme est morphologiquement identique à celui d'Isospora bigemina, coccidie décrite par Wardel Stiles en 1891.

S'il en était ainsi, il ne faudrait plus parler de Toxoplasma gondii et de Toxoplasmose mais d'Isospora bigemina et d'Isosporose. Cependant, il est encore prématuré de conclure aussi définitivement. Attendons que les protozoologistes soient d'accord.

II. — *REPARTITION GEOGRAPHIQUE*

La Toxoplasmose est une maladie ubiquitaire : l'exemple de l'infection des carnivores qui est, il est vrai, le mieux étudié, est très révélateur à cet égard et, si le premier Toxoplasme fut isolé en Tunisie, les observations ultérieures ont montré qu'on le retrouvait sous des climats aussi différents que ceux d'Europe, Afrique, Amérique, Asie ou Océanie, seul l'Antarctique semblant épargné. La fréquence varie considérablement d'un pays à l'autre et même à l'intérieur d'un pays. Les diverses toxoplasmoses animales n'ont été identifiées en France que chez le chien, le chat, le vison, le lapin et les bovins.

III. — *EPIDEMIOLOGIE*

Les espèces atteintes

La Toxoplasmose n'est pas une infection rare mais elle est souvent méconnue parce qu'inapparente ou discrète. Si on se réfère à la liste dressée par Bartorelli et Bérengo (4) qui n'est sans doute pas exhaustive, la Toxoplasmose affecte de très nombreuses espèces animales car il n'y a pas apparemment de spécificité d'hôte, bien que des passages multiples soient nécessaires pour adapter les souches d'un animal à un autre. Elle se traduit par des troubles variables selon leur sensibilité respective.

L'Homme est fréquemment atteint (Desmonts indique 85 %), mais seule la Toxoplasmose congénitale est vraiment grave.

Chez les rongeurs, le nombre d'infestés latents est toujours faible, mais les cas de maladie aiguë sont fréquents. Ce sont donc des animaux de choix pour l'isolement et la conservation des souches. Une restriction est à apporter en ce qui concerne le rat, chez lequel il n'existe qu'une forme latente.

Chez les carnivores, les réactions sérologiques positives sont nombreuses (selon Groulade et Desmonts, 47 % des chiens et 60 % des chats). On peut même isoler des souches. Il faut noter une résistance relative du chien adulte, due à des infections antérieures.

Le cheval est l'animal domestique le plus faiblement atteint (à peine 10 %).

Les bovins sont souvent contaminés (jusqu'à 50 %).

Le taux le plus élevé concerne les petits ruminants avec plus de 70 % et les avortements sont fréquents : si on y joint la mortalité néonatale, on arrive en Australie et au Canada à un taux de 50 %.

L'ingestion de viande de porc par la souris a donné 16 % de résultats positifs. A noter cependant que la mise en évidence du parasite par inoculation donne des résultats inférieurs au sérodiagnostic.

Chez les oiseaux, l'infestation est également très fréquente : on a isolé des Toxoplasmes chez la plupart des espèces de basse-cour et chez quelques oiseaux de volière.

En conclusion, d'une manière générale, les petits animaux font une infection grave, voire mortelle, alors que les grands sont beaucoup plus résistants.

On a pu établir une relation statistiquement significative entre la possession de chiens ou de chats et la présence d'anticorps antitoxoplasmiques dans le sang de personnes adultes (41). Il n'en est pas de même lorsqu'il s'agit de propriétaires d'autres animaux tels que lapins, souris, perroquets ou poissons rouges... La raison en est sans doute la nature reconnue du Toxoplasme comme coccidie, coccidie du chat mais pourquoi pas du chien ? On a remarqué que les hommes mariés, propriétaires de chiens ou de chats, avaient un taux élevé d'anticorps, ce qui peut être attribué au fait qu'ils manipulent la viande crue destinée aux repas de leurs animaux, mais surtout ce qui confirme bien le cycle de ce parasite.

Sensibilité

Apparemment, il n'y a pas de spécificité d'hôte bien que des passages multiples soient nécessaires pour adapter les souches d'un animal à un autre.

On observe une résistance naturelle des divers animaux due à un facteur sérique antitoxoplasmique thermolabile non spécifique, qui a été mis en évidence *in vitro*. Comme la résistance augmente avec l'âge, il pourrait y avoir un rapport entre vieillissement et apparition du facteur sérique. A des doses thérapeutiques, les corticoïdes ne semblent pas entraîner une exaltation de la Toxoplasmose chez l'Homme. C'est le contraire qui se produit si des doses plus fortes sont associées à des immunodépresseurs.

L'infection par Toxoplasma gondii confère une immunité attestée par l'apparition d'anticorps spécifiques et

la survie de l'animal à une inoculation d'épreuve. Ce fait est confirmé par l'observation qu'une femme ne donne jamais naissance à plus d'un enfant atteint de Toxoplasmose congénitale. Cependant, l'immunité par infection active n'est pas toujours totale.

Les primates résistent très bien sauf le nourrisson atteint de Toxoplasmose congénitale. Le phénomène peut s'expliquer soit par une déficience immunologique du fœtus par rapport à l'adulte, soit par un phénomène de double passage. Cependant en France, 9 adultes sur 10 ont des réactions immunologiques positives ! Mais il convient de distinguer :

— La Toxoplasmose-infection extraordinairement répandue dans tous les pays de civilisation européenne.

— La Toxoplasmose-maladie fort heureusement beaucoup plus rare. Ceci s'explique fort bien par la remarquable adaptation du parasite à ses hôtes. Il n'en demeure pas moins que la fréquence de la contamination est telle que les Toxoplasmoses cliniquement exprimées sont loin d'être exceptionnelles en pratique médicale courante. Il importe donc que tout médecin sache y penser. Or le diagnostic clinique est très difficile car la maladie est protéiforme et ses symptômes ressortissent aussi bien à l'obstétrique qu'à la pédiatrie, l'hématologie, la neuropsychiatrie ou l'ophtalmologie. Il faut d'ailleurs distinguer d'emblée deux grands t y p e s de Toxoplasmose-maladie :

- la Toxoplasmose acquise, qui est le plus souvent bénigne ;
- la Toxoplasmose congénitale, qui réalise volontiers des formes graves, mettant immédiatement en danger la vie ou à l'échéance plus lointaine différentes fonctions, surtout la vision.

1° *La Toxoplasmose acquise.*

C'est Sabin qui en 1941 en diagnostiqua les deux premiers cas chez des enfants atteints d'encéphalomyélite Elle est en général bénigne et donc passe facilement inaperçue, mais elle peut aussi être sévère et évoluer sous le masque d'autres affections. Adoptons la classification de Y.G. Golvan qui distingue :

1.1. Les formes graves.

1.1.1. A type « infection générale » : paraissent bien être exceptionnelles et ne se rencontrer que chez des sujets affaiblis par une autre maladie.

1.1.2. A type « méningoencéphalite » : moins exceptionnelles que les précédentes et semblent frapper surtout les enfants. L'évolution est mortelle ou favorable, alors sans séquelles, mais parfois subsistent des crises d'épilepsie résiduelle.

1.2. Les formes bénignes.

1.2.1. A type « mononucléose infectieuse » : affections d'allure grippale. L'examen clinique révèle une polyadénopathie. La formule blanche révèle une augmentation des lignées mononucléées. On pense que 15 % environ des mononucléoses infectieuses sans anticorps hétérophiles sont des Toxoplasmoses acquises.

1.2.2. A type « polyadénopathie non fébrile » : semblent être les plus fréquentes. Les ganglions sont hypertrophiés mais non douloureux. Ils ne diminuent de volume que très lentement et demeurent perceptibles pendant plusieurs mois.

1.2.3. Formes inapparentes : leur existence est certaine, mais leur fréquence bien difficile à apprécier.

1.3. Formes oculaires : on a de bonnes raisons de penser qu'au moins le quart sinon la moitié des choriorétinites et des uvéites postérieures sont d'origine toxoplasmique. Ces localisations oculaires graves parce qu'évolutives apparaissent comme des complications des formes bénignes et non pas au cours ou à la suite des formes graves. L'évolution se fait vers une aggravation du phénomène inflammatoire : l'hypertension apparaît et les douleurs sont telles qu'elles obligent à l'énucléation.

2° *La Toxoplasmose congénitale.*

Le passage du Toxoplasme à travers le placenta ne peut avoir lieu que si la mère fait au cours de sa grossesse une Toxoplasmose acquise. De plus, l'envahissement de l'organisme de l'enfant ne peut se produire que pendant la phase primaire septicémique de la Toxoplasmose. Au

moins dans l'espèce humaine, la Toxoplasmose chronique n'est pas transmissible de la mère au fœtus et, même pendant la phase septicémique, cette transmission n'est pas obligatoire. Cependant la Toxoplasmose congénitale peut être si grave, la fréquence des manifestations retardées si grande chez l'enfant, qu'il convient de surveiller toutes les femmes qui ont des réactions sérologiques négatives, et donc réceptives à la Toxoplasmose, afin de pouvoir les traiter sans retard si au cours de leur grossesse des anticorps spécifiques apparaissent. L'infestation du fœtus se fait par l'intermédiaire de foyers disséminés dans le tissu placentaire et non par passage direct du parasite de la circulation maternelle dans la circulation fœtale. Cette phase d'invasion est d'ailleurs très brève puisque la mère développe rapidement son immunité et que ses anticorps protecteurs passent chez son fœtus. Mais ici encore le Toxoplasme survit dans le tissu nerveux et la rétine du fœtus, alors qu'il disparaît rapidement des autres viscères.

Si le passage transplacentaire se produit précocément, c'est-à-dire entre le quatrième et le sixième mois, l'enfant naît mort ou il présente dès sa naissance des manifestations pathologiques graves (hydrocéphalie, calcifications intracérébrales, troubles psychomoteurs, choriorétinite).

Si le passage se fait en fin de grossesse, dans le dernier trimestre, l'enfant peut naître apparemment sain et les symptômes de la Toxoplasmose n'apparaître que dans les jours, les semaines ou les mois qui suivent.

Cette disgression relative à la Toxoplasmose humaine nous a paru pleinement justifiée pour faire ressortir l'importance d'une enquête épidémiologique chez le chien, fidèle compagnon de l'homme.

La Contamination

1° *Sources de parasites et matériel virulent.*

Les sources de parasites sont représentées aussi bien par les infestés latents que par les malades, les Toxoplasmes se retrouvant essentiellement dans les urines, les fécès, le lait et les muscles. Ces deux dernières sont la source principale de contamination chez l'Homme et la viande n'est donc pas seule en cause.

L'Homme peut aussi s'infester directement à partir des sporocystes du réservoir tellurique. L'enfant qui joue avec la terre, comme l'adulte qui mange des fruits tombés et jardine, sont certainement exposés à ce risque. Ceci explique aussi l'infection des sujets qui mangent la viande très cuite. Pour peu que le climat, l'humidité en particulier permettent la survivance des ookystes sur le sol, la Toxoplasmose s'observera même chez des végétariens (peut-être pourrait-on dire surtout : tout est fonction de la conservation des ookystes. S'il faut tenir compte des mœurs des chats et de la souillure du sol, ceci est habituellement réduit par rapport aux crudités ingérées par l'Homme).

2° *La transmission.*

Elle est très discutée. D'un point de vue expérimental, la Toxoplasmose peut être transmise par inoculation du parasite. Toutes les voies sont possibles : digestive, respiratoire, ou parentérale.

Dans la nature, la transmission d'homme à homme ne se produit pas, sauf par voie intra-utérine et rien n'indique que l'infection se transmette habituellement des mammifères et des oiseaux à l'homme autrement que par ingestion, les carnivores et les omnivores pouvant s'infester à partir de viandes ou d'œufs souillés. Pour les herbivores et les oiseaux, le problème est résolu depuis que l'on connait le cycle du parasite.

On sait depuis longtemps que la contamination se fait naturellement :

— par voie transplacentaire, lorsque la mère fait une primo-infection ;

— par voie rhino-pharyngée (Grocott 1949) en respirant des poussières chargées de Toxoplasmes : crachats, excréments desséchés d'oiseaux, de rongeurs, de carnivores. Cependant le Toxoplasme est peu résistant à la sécheresse ;

— par voie buccale dans la mesure où l'hôte ingère des aliments liquides ou solides souillés par des Toxoplasmes, boit le lait d'une femelle domestique atteinte de Toxoplasmose occulte ou plus communément mange de

la viande où est enkysté le Toxoplasme (Mesnil et Sarrailhe, Nicouleau, Sabin et Olitsky). Cependant le pH doit être neutre pour que le parasite résiste et son pouvoir infestant n'excède pas 4 à 5 jours. Il faut admettre, si on se réfère à sa fragilité dans le tube digestif, la possibilité pour la forme végétative du Toxoplasme de pénétrer dans le milieu intérieur dès la cavité buccale. Il n'en est pas de même pour les pseudokystes, qui sont résistants au suc digestif et qui sont donc parfaitement infestants.

Hutchison (23-24) pensait à une transmission possible du Toxoplasme par les helminthes et a même montré que le Toxoplasme se conserve pendant 17 mois dans des œufs embryonnés d'ascarides. Des expériences conduites avec Toxocara cati et d'autres helminthes ont révélé que si on infestait de Toxoplasmes un animal parasité et qu'on fasse ingérer les œufs du parasite à une souris, celle-ci présentait une Toxoplasmose. Si on admet que le Toxoplasme est un sporozoaire, on peut poser en principe l'existence d'une phase de reproduction sexuée chez l'hôte invertébré ou de simple multiplication par l'intermédiaire de schizogonies.

L''hypothèse était séduisante. Cependant quelques résultats étaient contradictoires : Jacob d'abord (25) puis Hutchison lui-même dans une expérimentation conduite avec Work (54) s'aperçurent qu'un chat excrète parfois la forme résistante du Toxoplasme en l'absence d'ascaris. D'un autre côté, Dubey dans le laboratoire de Frenkel montrait que si l'ascaris et le Toxoplasme sont associés, il y a dans les matières beaucoup plus de doses infestantes de Toxoplasmes qu'il n'y a d'œufs d'ascaris. La présence de Toxoplasma gondii dans le vers adulte ou dans les œufs de Toxocara cati n'a jamais été démontrée de façon irréfutable et pour cause. Mais c'est peut-être parce que les formes du parasite y sont très différentes de celles observées chez les vertébrés : Boisseau et Nodenot en 1936 reprenant des essais plus anciens de S. Nicouleau (1932) n'admettent-ils pas la possibilité d'une forme filtrable du Toxoplasme du cobaye ?

En fait, les deux peuvent être séparés par filtration différentielle : le Toxoplasme résistant n'est pas dans l'œuf du vers, il est en dehors. On comprend maintenant

le cycle du Toxoplasme dans la nature. Le chat enterre ses excréments. S'ils contiennent des ookystes, ceux-ci seront ramenés à la surface du sol par les vers de terre. (Une expérience de FRENKEL à ce sujet est parfaitement démonstrative.) La sporogonie, si elle n'est pas déjà faite, va s'effectuer à l'air et sur le sol si les conditions sont favorables. Les oiseaux s'infestent en mangeant les vers de terre ou en picorant des graines, les petits rongeurs en consommant des grains tombés sur le sol. Oiseaux et rongeurs sont les proies du chat qui chasse. Mais le bétail peut aussi s'infester, le porc plus particulièrement qui fouille le sol, et le mouton qui broute l'herbe de très près et sera de ce fait plus souvent contaminé que ne l'est le bœuf. La viande de ces bestiaux conserve des kystes parasitaires qui seront la source principale de l'infestation pour les carnivores tels que le chien, ou l'homme dans la mesure où ses goûts culinaires lui font consommer la viande très peu cuite. Il ne semble pas que la reproduction sexuée du Toxoplasme s'effectue chez ces hôtes : le chien ou l'homme ne contribuent donc pas, au moins dans l'état actuel de nos connaissances, à l'entretien du réservoir parasite tellurique.
parasite tellurique.

A partir de ces différentes portes d'entrée, la dissémination du parasite se fait par voie sanguine et mésodermique, ce qui laisse présager un rôle non négligeable des arthropodes piqueurs hématophages et tout particulièrement des Tiques, dans la transmission par voie transcutanée du Toxoplasme. Jusque là, les travaux de PIERARSKI, confirmés par LAWEN et WESTPHAL, ont montré qu'on pouvait inoculer la Toxoplasmose par injection intrapéritonéale d'un broyat de Tiques prélevées sur des animaux infestés. Mais aucun auteur n'a réussi expérimentalement la transmission des Toxoplasmes par repas de sang d'ectoparasites sur un animal infecté et inoculation naturelle à un animal sain. Ce qui n'implique évidemment pas qu'elle soit impossible.

IV. — *PATHOGENIE.*

Pour comprendre la clinique et la sérologie de la Toxoplasmose, il est essentiel de se souvenir du mécanisme intime de l'infestation et de son développement tel que l'a énoncé Frenkel. Nous décrivons ici l'évolution de la « Toxoplasmose-maladie ».

L'infestation se déroule en trois temps :

1° *Phase primaire :*

Le Toxoplasme se multiplie au point d'inoculation dans les cellules histio-monocytaires. Il se forme donc un véritable chancre d'inoculation. Les lésions se résument à une nécrose des cellules hôtes qui éclatent lorsque leur cytoplasme est encombré des formes végétatives du parasite. Ces éléments ainsi libérés vont parasiter activement des cellules saines. A partir du chancre d'inoculation et par voie lymphatique ou sanguine, les formes végétatives diffusent dans tous les viscères et s'y multiplient à nouveau. Ce sont des organismes riches en cellules du système réticulo-histiocytaire qui sont particulièrement le siège de cette prolifération. Progressivement, au fur et à mesure que croîtra le taux des anticorps protecteurs, cette parasitémie se réduira.

2° *Phase secondaire :*

Le sujet s'immunise et les formes végétatives sont lysées dès qu'elles sont libérées de leurs cellules hôtes. Cependant, dans certains organes pauvres en anticorps (cerveau, œil) la multiplication continue.

3° *Phase tertiaire :*

C'est la Toxoplasmose chronique, qui peut durer des années. Il n'y a plus de formes végétatives mais seulement des kystes particulièrement nombreux dans le système nerveux central et ses annexes (rétine) ainsi que dans les muscles. Ces kystes sont remarquablement bien

tolérés par le tissu de l'hôte et n'entraînent pas la formation d'anticorps. En revanche, le sujet est devenu allergique au contenu de ces kystes. Tant qu'ils sont intacts, il ne se produit aucune manifestation pathologique, mais dès qu'ils se rompent ou que leur coque devient perméable, ceci entraîne des phénomènes inflammatoires locaux. C'est la pathogénie des Toxoplasmoses chroniques évolutives.

Cependant, nous avons signalé que les formes inapparentes étaient de très loin les plus nombreuses. Il est vraisemblable qu'elles évoluent selon le même schéma, mais tous les paramètres en sont très atténués.

V. — *ETUDE CLINIQUE DE LA TOXOPLASMOSE CHEZ LE CHIEN.*

La maladie est rarement diagnostiquée du vivant de l'animal. En effet, les signes cliniques peuvent manquer ou être si discrets qu'ils passent inaperçus. Lorsqu'ils existent, ils ne sont pas pathognomoniques. Enfin, une maladie associée complique souvent le tableau clinique : maladie de Carré, maladie de Rubarth, leptospirose entre autres.

La diversité des aspects cliniques de la Toxoplasmose est la conséquence des nombreuses localisations possibles du parasite sur un ou plusieurs organes ainsi que de l'évolution rapide ou lente que peut prendre la maladie.

Chez le chien, le tableau clinique est très voisin de celui de l'homme et la maladie peut être congénitale ou acquise.

La maladie congénitale

Le chiot se contanime *in utero,* alors que sa mère est apparemment saine. On observe des avortements, de la mortinatalité, de la stérilité.

La maladie acquise

Elle peut revêtir différentes formes.

1° *Forme inapparente :*

Mise en évidence par des examens sérologiques. Les signes cliniques font défaut.

2° *Forme fruste :*

Se traduit par des signes cliniques mineurs.

3° *Formes diffuse aiguë :*

La température ne dépasse pas 40° C. On note de brutales éruptions cutanées formées d'éléments maculo-

papulaires rouges-bruns. Simultanément, on observe une diarrhée séro-hémorragique, une respiration dyspnéique, un jetage mucopurulent, de la paraplégie. Un examen hématologique pratiqué au cours de la maladie permet de constater une légère leucocytose avec granulocytose neutrophile. La vitesse de sédimentation est accélérée, il y a augmentation en pic de la globuline alpha 2.

De telles formes qualifiées par LEVADITI de « hématogènes » ont été observées en médecine humaine. Selon GARIN, elles résulteraient d'une inoculation massive des formes végétatives. Certaines sont la conséquence d'accidents de laboratoire ; d'autres pourraient survenir — ce n'est là qu'une hypothèse — à la suite d'une piqûre de Tique.

4° *Formes localisées :*

Elles affectent un appareil ou un organe. GROULADE distingue des formes à évolution rapide et des formes à évolution lente. Ce type d'évolution dépend de la virulence de la souche et du degré d'immunité de l'animal. Il peut être influencé par une infection concomitante.

Que l'évolution soit rapide ou lente, les formes ganglionnaires sont les plus fréquentes car, quelle que soit la porte d'entrée, le Toxoplasme se trouve d'abord dans la lymphe. D'où une lésion qui signe la maladie toxoplasmique : l'hypertrophie de la rate avec des foyers de nécrose macroscopiques provoqués par la multiplication des parasites.

a) *Formes à évolution rapide.*

L'évolution dure de 2 à 4 semaines avec une hyperthermie modérée. La localisation peut être viscérale, ganglionnaire, nerveuse, articulaire, musculaire, cutanée.

Selon GROULADE, la répartition suivant l'âge se fait comme suit :

— chiens de 3 mois à 2 ans : 62,2 % des cas ;

— chiens de 2 à 5 ans : 32 % des cas ;

— chiens de 5 à 15 ans : 5,8 % des cas.

Suivant la localisation :

— localisation nerveuse : 37,7 % provoquant une mortalité de 50 % ;

— localisation viscérale : 52,8 % provoquant une mortalité de 11 %.

A noter que :

— les jeunes sont les plus touchés par cette forme ;
— les localisations nerveuses sont les plus fatales ;
— les localisations de formes à évolution rapide sont en quantité moindre que celles à évolution lente.

On observe simultanément ou successivement des troubles digestifs, pulmonaires, une adénopathie (sous-maxillaire et médiastinale surtout), myalgie, arthralgie, des troubles cutanés, nerveux avec contractures faisant parfois penser à une intoxication par la strychnine. La chorée est exceptionnelle.

Un examen de sang effectué dans les dix premiers jours montre une leucopénie avec rarement neutropénie et mononucléose. Plus ordinairement, on a une neutrophilie qui fait place à une éosinophilie vers le vingtième jour (signature classique d'une parasitose). La vitesse de sédimentation, normale au début, s'accélère à partir du huitième jour en liaison directe avec complications pulmonaires et hépatho-rénales.

b) *Formes à évolution lente.*

L'évolution dure de plusieurs mois à plusieurs années avec des phases silencieuses pouvant en imposer pour une guérison et des phases évolutives souvent rapportées à une autre cause, parce que caractérisée par des troubles d'un organe ou d'un système.

Les localisations sont celles de l'évolution rapide auxquelles s'ajoutent des localisations génitales, oculaires, ascitiques, cardiaques.

Selon GROULADE, la répartition en fonction de l'âge se fait comme suit :

— chiens de 3 mois à 2 ans : 9,2 % des cas ;
— chiens de 2 ans à 5 ans : 41,4 % des cas ;
— chiens de 5 à 15 ans : 49 % des cas.

Suivant les localisations :

— localisation nerveuse : 31,4 % des cas provoquant une mortalité de 27,3 % ;

— localisation viscérale : 17,1 % des cas provoquant une mortalité de 25 % ;

— localisation cutanée : 30 % des cas provoquant une mortalité de 7,1 % ;

— localisation génitale : 3,5 % des cas provoquant une mortalité de 60 % ;

A noter que :

— les vieux sont les plus touchés par cette forme ;

— les localisations génitales et ascitiques sont rares mais les taux de mortalité sont en revanche élevés.

La température ordinairement normale peut s'élever à 39,5 ° ou 40° C. au cours d'une phase évolutive. On observe en particulier un poil terne, des troubles digestifs, cardiaques, oculaires (choriorétinite, cataracte précoce), cutanés, nerveux (agressivité, contractures, dilatation pupillaire).

Un examen sanguin montre une leucocytose normale ou augmentée avec toujours neutrophilie, une vitesse de sédimentation normale ou accélérée. En microélectrophorèse, on note une chute du taux d'albumine et une augmentation du taux des globulines β et γ.

Au cours d'une Toxoplasmose à évolution lente, il n'est pas rare d'assister à l'apparition successive ou simultanée de différentes localisations avec aggravation progressive ou de phases évolutives rapidement mortelles.

En conclusion, notre attention doit être attirée sur le fait que l'évolution de la Toxoplasmose chez le chien est difficile à préciser en raison des phases évolutives coupées de nombreuses et longues rémissions pouvant en imposer pour des guérisons et faire penser que les rechutes sont les premières atteintes. Cette notion ne doit pas être méconnue. La constitution des lésions nous apparaît bien souvent lente et progressive. L'apparition des premiers troubles se situe plusieurs mois, quelques fois plusieurs années après l'infection.

VI. — *LE DIAGNOSTIC DE LA TOXOPLASMOSE CHEZ LE CHIEN.*

Il repose sur trois méthodes : clinique, anatomopathologique et parasitologique. Les deux premières sont toujours associées, les trois sont parfois nécessaires. Elles seront complétées par l'inoculation aux animaux de laboratoire.

Le diagnostic clinique

Le diagnostic clinique de l'infection toxoplasmique est difficile car il n'y a aucun symptôme pathognomonique et les confusions sont faciles avec :

— certaines viroses comme la maladie de Carré, l'Hépatite contagieuse ou la Rage, qui peuvent d'ailleurs coexister avec la Toxoplasmose ;

— certaines maladies purement parasitaires comme la Leptospirose, des formes atypiques de Piroplasmose, Isosporose, Histoplasmose ou un parasitisme auriculaire et intestinal générateur de crises épileptiformes, etc.

Cet examen clinique s'avère donc insuffisant : tout au plus peut-il entraîner une suspicion. Il est indispensable de recourir aux examens de laboratoire.

Le diagnostic anatomo-pathologique

1° *Diagnostic nécropsique.*

Ce que l'on observe à l'autopsie est variable avec l'évolution de la maladie. Il existe de façon constante des atteintes pulmonaires, hépatiques et cardio-vasculaires se traduisant par la présence de fins nodules de la taille d'un grain de mil, que l'on peut retrouver sur les reins et dans la rate. Dans une forme diffuse aiguë, ces petites lésions nécrotiques sont parfois très fréquentes et s'ac-

compagnent souvent d'une splénomégalie avec inflammation des ganglions lymphatiques.

Les ganglions sont de volume modéré, dépassant rarement la taille d'une amande ou d'une cerise. Au toucher, ils sont fermes, élastiques, sans aucune périadénite. Jamais ils n'évoluent vers la suppuration et demeurent toujours parfaitement mobiles, n'adhérant pas aux tissus voisins.

Lors de localisations oculaires, l'examen du fond de l'œil ne montre pas d'aspects réellement pathognomoniques au niveau de la rétine. La lésion élémentaire est une petite boursouflure œdémateuse entourée d'un halo congestif. Puis, en son centre, se produit une nécrose grisâtre qui reste toujours localisée. La cicatrisation se fait au prix d'une atrophie avec prolifération du conjonctif. C'est presque toujours à ce stade que l'on voit la lésion, qui se présente comme une plage blanc-nacré d'atrophie rétinienne avec parfois au centre une masse pseudotumorale et entourée d'une zone pigmentée.

L'atteinte des autres parties de l'œil résulte de l'extension ou des phénomènes inflammatoires, en particulier au tractus uvéal, déterminant surtout les uvéites postérieures et même parfois une panuvéite. Ces phénomènes inflammatoires peuvent aussi gagner la chambre antérieure.

2° *Diagnostic histologique :*

L'observation indubitable de Toxoplasmes constitue un diagnostic de certitude, mais seulement en matière d'infection toxoplasmique et n'affirme en rien que c'est l'agent responsable de la maladie observée.

La technique consiste à rechercher le Toxoplasme dans les tissus ou les liquides organiques en faisant appel aux techniques de coloration histologique habituelles, et un observateur expérimenté peut même déceler des pseudokystes dans des préparations non colorées. Cependant l'identification précise du Toxoplasme représente certainement la difficulté principale du diagnostic histologique car il faut le différencier des artéfacts et des autres parasites tels que protozoaires ou champignons. C'est pour-

quoi on lui préfère le plus souvent l'inoculation à la souris.

Le diagnostic parasitologique

1° *Inoculation aux animaux de laboratoire :*

Des souris blanches en bonne santé et dont la sensibilité au Toxoplasme a été vérifiée, reçoivent par voie intrapéritonéale 0,5 à 1 ml de suspension de tissu à 20 %. L'épreuve est effectuée en même temps sur d'autres souris servant de témoins. Au bout d'une semaine, le Toxoplasme peut être mis en évidence dans l'exsudat péritonéal éventuel. L'injection du produit suspect peut aussi se faire par voie intraoculaire, dans la chambre antérieure de l'œil. S'il y a Toxoplasmose, la réaction est intense : Kératite, Iridocyclite, avec pus dans la chambre antérieure de l'œil. Si rien ne s'est produit, on peut, au bout de six semaines, faire une épreuve de coloration.

Cette technique d'inoculation se heurte à trois sortes de difficultés essentielles :

— elle demande un certain laps de temps, qui peut être préjudiciable pour l'animal malade ;
— il peut se produire une résistance à l'infestation, une infestation spontanée ;
— il peut se produire une infestation latente chez la souris, qui nécessitera des passages en série.

2° *Mise en évidence de l'état de parasitisme : diagnostic sérologique :*

Il consiste à mettre en évidence les anticorps antitoxoplasmiques dans le sérum de l'animal suspect. En dehors de l'immunofluorescence, il existe différentes techniques que nous exposerons brièvement après avoir fait une rapide étude de la fonction antigène.

2.1. Immunité dans les maladies parasitaires (50) :

La plupart des maladies parasitaires sont le type même des maladies chroniques. Elles s'individualisent donc des infections bactériennes ou virales classiques par le fait que l'immunité qu'elles confèrent à l'hôte, est un état de prémunition. Cela signifie qu'il n'y a état d'immunité chez un sujet infesté par un parasite que dans la mesure où

il y a persistance du parasite dans l'organisme. Ces parasites sont en petit nombre dans des foyers définis en fonction de leur affinité pour certains tissus. C'est à cause de cette présence que l'état d'immunité se crée par la fabrication régulière d'anticorps pour lutter contre la diffusion des antigènes parasitaires.

Ainsi se réalise entre le parasite et son hôte un état d'équilibre qui constitue la prémunition des infestations parasitaires.

2.2. Pouvoir antigène des toxoplasmes :

SARRAILHE, en 1914, avait déjà remarqué que des animaux guéris de Toxoplasmose possédaient l'immunité, mais il n'avait pas réussi à mettre en évidence d'anticorps. Chez des lapins guéris LEVADITI, en 1928, retrouve la même immunité puisqu'en essayant de les réinsfester par voie intracérébrale, il ne retrouve pas de toxoplasmes dans le cerveau, qui n'a pourtant pas d'action toxoplasmicide *in vitro*. Il remarque, d'autre part, que la séroprévention ne protège pas contre une infection par inoculation intracérébrale. Il conclut donc à une immunité d'origine cellulaire. En revanche, en 1937, SABIN et OLITSKY parviennent à détecter, par le test de protection de la souris, des anticorps dans du sérum de singes (Macacus Rhésus) qui ont résisté à cette maladie.

SABIN et RUCHMAN, travaillant sur des singes, constatent que des anticorps apparaissent une semaine après l'infestation et que le taux est maximum au bout de deux semaines et peut persister pendant 14 mois. Ils n'isolent pourtant pas de toxoplasme au cours de la convalescence de leurs animaux d'expérience. SABIN, en 1941, retrouve la même chose chez l'homme.

En 1951, BLANC et BRUNEAU (5) mettent au point un sérum antitoxoplasmique chez le mouton par inoculations répétées de produit virulent. Cependant, là encore, ils ne décèlent pas de toxoplasmes lors de la mort de l'animal générateur de sérum. Ce sérum est très actif et doué d'un pouvoir neutralisant mais seulement *in vivo*. *In vitro* (SABIN et RUCHMAN) les Toxoplasmes mis à son contact ne subissent ni agglutination, ni précipitation, ni lyse, mais conservent leur virulence.

Le taux d'anticorps dans un sérum est faible : il ne

tralise 100 doses minimales de toxoplasmes en provoquant des lésions cutanées et aucun anticorps ne peut être décelé dans un sérum dilué au $1/10^e$. Ce taux est encore plus faible chez le chien que chez les autres espèces, car c'est un mauvais producteur d'anticorps. De plus, les anticorps sont thermolabiles et si un prélèvement ne peut être examiné immédiatement, il importe de le conserver au froid ou desséché.

Cette méthode sérologique, rendue difficile par le faible taux et la mauvaise conservation des anticorps, se voit encore compliquée par le fait que les Toxoplasmes ont des antigènes communs avec les Sarcosporidies et certains flagellés (Trypanosome, Trichomonas). Mulhpfordt en 1951 (38) trouvait que 26 % des moutons parasités par des Sarcosporidies réagissaient positivement en présence d'antigènes toxoplasmiques. Westphal trouvait que la plupart des sérums de moutons, chèvres ou bovins donnaient des déviations positives en présence des mêmes antigènes. Awad, en 1954 (3), trouvait des réactions positives avec des sérums provenant indifféremment d'animaux infectés par des toxoplasmes ou des sarcosporidies, en utilisant un antigène préparé avec des spores de Sarcocystis.

2.3. Techniques de sérodiagnostic :

a) Fixation du complément.

Nicouleau et collaborateurs ont utilisé les premiers cette réaction mais la difficulté réside dans la préparation de l'antigène. Warren et Russ le préparent à partir de cultures de 7 jours sur membrane chorioallantoïdienne de poulet, Steen et Kass à partir de liquide péritonéal de souris sacrifiées au quatrième jour après une inoculation intrapéritonéale de toxoplasmes virulents, Giroud et collaborateurs à partir de poumons de souris préalablement infestées.

Ce test s'avère assez tardif (fin du premier mois), fugace et peu sensible : il peut être négatif chez des sujets dont on isole la souche.

b) Test de lyse : dye-test de Sabin et Feldman (1948) (43).

Cette réaction est une réaction de coloration dont le principe est que le sérum d'un sujet infecté empêche la coloration vitale des toxoplasmes par le bleu de méthylène alors qu'un sérum normal ne gêne pas la coloration. Celle-ci, pour être nette, nécessite un « facteur accessoire » qui ne se trouve que dans le sérum de sujets n'ayant jamais été en contact avec le parasite et qui doit être utilisé frais ou conservé dans la neige carbonique.

Cette méthode est très sensible et devra être considérée comme positive si 90 % au moins des toxoplasmes ne sont pas colorés, les sérums étant dilués au 1/100e au moins. Par titre dye-test, on entend la dilution la plus forte qui donne encore 50 % de toxoplasmes non colorés.

Lelong et Desmonts (30) remplacent la coloration au bleu de méthylène par l'examen au microscope en contraste de phase.

La plupart des auteurs admettent la spécificité de cette épreuve. On lui reprochera, comme aux autres épreuves sérologiques, de donner des résultats difficiles à interpréter. Une réponse négative indique l'absence de Toxoplasmose, sauf si le sérum a été prélevé trop tôt après l'infestation, mais une réponse positive n'indique pas forcément que le chien soit atteint de Toxoplasmose. Elle témoigne simplement de son infestation à un moment donné de son existence. L'interprétation sera plus aisée si l'évolution de la maladie permet de réaliser deux examens et si le deuxième révèle un titre nettement supérieur à celui du premier. Le diagnostic sera solidement étayé si les résultats sont confirmés par une épreuve différente : fixation du complément par exemple.

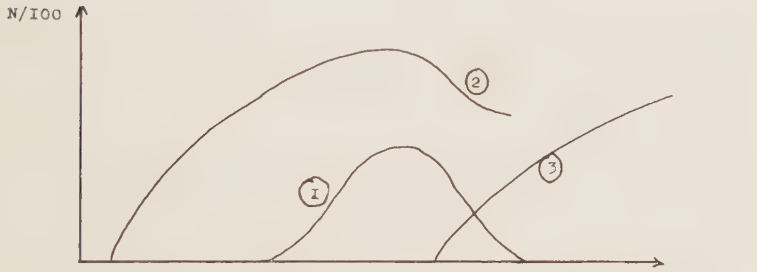
c) Intra-dermo raction de Frenkel.

Elle est fondée sur une réaction cutanée différée. Elle utilise un antigène témoin dépourvu de Toxoplasme et des antigènes de sources très diverses : exsudats péritonéaux de souris ou de hamster inoculés depuis 4 à 5 jours, membranes chorio-allantoïdiennes d'œufs embryonnés infectés, cultures tissulaires infectées, etc.

Cette épreuve devient positive quelques mois après l'infection par le Toxoplasme (plus tard que les épreuves strictement sérologiques) et il est probable qu'elle le reste

pendant toute la vie. C'est donc un test tardif qui est utilisé d'un point de vue épidémiologique.

Elle se manifeste par une induration accompagnée d'un érythème apparaissant vers la quatrième heure et atteignant son maximum à la quarante-huitième heure. Les tests positifs persistent 4 à 10 jours alors que l'érytème des tests négatifs disparaît dans la plupart des cas en 24 heures ainsi que les témoins.



Comparaison de la fidélité de ces 3 épreuves (50)

1. Fixation du complément.
2. Test de lyse.
3. Intra-dermo réaction.

d) Hémagglutination de Jacobson et Lunde (1957) - (26).

C'est une réaction plus sensible que les autres mais aussi plus tardive que celle de lyse. On l'utilise à la fois pour le diagnostic et dans les enquêtes séro-épidémiologiques. Elle emploie comme antigène des globules rouges humains O- tannés et sensibilisés au liquide toxoplasmique. On les conserve par addition de formol.

e) Neutralisation des lésions cutanées : méthode de Sabin.

Le sérum des sujets infestés, mélangé à des suspensions de toxoplasmes, est inoculé dans la peau d'un lapin. Les lésions cutanées provoquées normalement dans les 24 heures sont très diminuées, voire inexistantes, dans le cas d'infection du sujet et ce test reste très longtemps positif.

Une réaction positive est le signe d'une infection certaine, mais cette réaction peut n'apparaître que tardivement et une réaction négative n'écarte pas la possibilité d'une infection récente.

f) L'immunofluorescence.

Nous ne la citons ici que pour mémoire puisqu'elle constitue toute l'étude qui va suivre.

VII. — *TRAITEMENT.*

Il doit être le plus précoce possible.

Dans la Toxoplasmose congénitale, il ne doit être entrepris que s'il existe des signes d'évolutivité : anomalies du liquide céphalorachidien, choriorétinite évolutive, atteinte viscérale, élévation du taux des anticorps.

La Toxoplasmose acquise est habituellement si bénigne qu'elle ne mérite pas de traitement. Cependant, il faudra instaurer celui-ci dans les formes graves, qui relèvent plus de l'expérimentation que de la pratique médicale proprement dite.

1° *Association sulfamides-pyriméthamine.*

Les sulfamides paraissent agir sur le Toxoplasme en diminuant ses possibilités de synthèse de l'acide folique. Ce sont surtout les sulfapyrimidines (sulfadimérazine, sulfamérazine et sulfadiazine) et la sulfapyrazine qui sont actives.

La pyriméthamine (Malocide) prend la place de l'acide folique dans la synthèse des nucléotides parasitaires. Mais le malocide est un médicament toxique, agissant en particulier sur les lignées hématopoïétiques. Son utilisation expose à l'anémie, l'agranulocytose et la thrombopénie.

Ces deux médicaments pris isolément ont une valeur limitée dans le traitement : seulement 50 % des sujets traités guérissent. Mais combinés, ils se révèlent très efficaces chez l'Homme et chez la Souris (22). Les sulfamides ont une action essentiellement inhibitrice de la multiplication, mais celle-ci reprend dès qu'on arrête leur administration. Le Malocide tue les formes végétatives et évite de ce fait le passage à l'état chronique. Mais tout comme les sulfamides, il est pratiquement dénué d'action sur les

kystes (15). Or il se trouve qu'il existe une synergie entre ces deux groupes de médicaments si bien que l'on peut réduire leurs doses respectives nettement au-dessous des doses dangereuses tout en obtenant des guérisons confirmées.

On associe généralement à ces deux drogues :

— de l'acide folique, qui a un effet protecteur contre l'action toxique du malocide, sans nuire à son efficacité ;

— des corticoïdes, qui permettent de réduire les phénomènes inflammatoires, de limiter les nécroses, de faciliter le passage des médicaments actifs au niveau des cellules et de réduire leur effet toxique.

Dans la pratique, cette association est maintenant délaissée car elle est dangereuse et nécessite une surveillance continuelle de la formule sanguine pendant les trois semaines que dure le traitement.

2° *Les antibiotiques :*

La spiramycine (Rovamycine) est actuellement utilisée dans cette affection. Son action paraît excellente et ne présente pas les dangers de l'association sulfamides-Malocide.

Chez un chien de 20 kg, on donnera 1 comprimé matin et soir de spiramycine dosé à 250 mg, soit 25-30 mg/kg.

La posologie chez un enfant est de 50 à 100 mg/kg, chez un adulte, de 2 à 6 g par 24 heures en prises fractionnées.

La déméthylchlortétracycline (Mexocine) est très active dans l'infestation expérimentale et est de plus en plus utilisée chez l'Homme à la dose de 600 mg chez l'adulte et 15 mg/kg chez l'enfant.

Le traitement arrête l'évolution des lésions aiguës, mais est sans action sur les séquelles neurologiques et oculaires, secondaires à l'infestation fœtale. Il doit cependant être tenté systématiquement pour prévenir les reprises évolutives ultérieures possibles, et peut être alors doublé de corticothérapie.

VIII. — *PROPHYLAXIE.*

Le chat répand le parasite dans le milieu extérieur. Il faudra donc le surveiller et au besoin l'isoler des autres animaux pour rechercher l'infestation coccidienne et la traiter. Mais cela reste insuffisant car il n'est pas impossible que la nature ait conféré à d'autres espèces le rôle reconnu au chat. Des études plus poussées dans ce sens méritent d'être menées et le seront sans doute. Pour le moment, la diversité des réservoirs de germes et l'obscurité des modalités de transmission rendent la prophylaxie difficile. La rareté de la Toxoplasmose acquise pourrait permettre de laisser le problème sans solution.

Dans l'état actuel de nos connaissances, nous ne pouvons donc qu'émettre certaines recommandations d'ailleurs peu précises.

1° Les femelles qui donnent naissance à des avortons ou à des mort-nés, doivent être considérées comme porteuses et écartées de la reproduction.

2° La détection des animaux infectés par examen sérologique peut faire diminuer la source de l'infection ultérieure.

3° Le contact direct semble nécessaire pour l'extension de la maladie. Par conséquent, l'isolement des groupes de malades doit pouvoir aider à lutter contre la maladie. Comme il y a un risque de transmission à l'espèce humaine, on devrait à la limite envisager la destruction complète des groupes d'animaux dans lesquels la maladie fait son apparition.

4° La viande paraissant être un agent non négligeable de transmission de la Toxoplasmose, on devrait théoriquement ne la faire consommer que très cuite, ce qui est illusoire pour nos carnivores domestiques en liberté.

5° En ce qui concerne la Toxoplasmose congénitale,

l'enjeu est plus grave. Le contraste entre la bénignité générale de la Toxoplasmose de l'adulte et sa gravité chez le nouveau-né devrait inciter à pratiquer, au moins chez la femme enceinte, un examen sérologique systématique (29) :

— un faible taux d'anticorps est en faveur d'une infestation ancienne et ne mérite pas de surveillance ;

— un taux d'anticorps plus élevé nécessite un traitement. (DESMONTS fixe le 1/1 000e) ;

— si le taux d'anticorps est nul, il faut exiger des épreuves sérologiques répétées.

Chez le nouveau-né, des anticorps élevés affirment le diagnostic, mais il peut s'agir d'anticorps transmis par la mère sans que le jeune ait été contaminé. Ce taux s'abaisse alors progressivement et disparaît vers le troisième mois. En revanche, le nouveau-né atteint présente un taux d'anticorps croissant, ce qui justifie le traitement.

Pour l'espèce humaine, on a essayé dans certains centres de mettre sur pied des enquêtes sérologiques sur les femmes enceintes pour dépister chez elles l'apparition d'une Toxoplasmose acquise et instaurer alors un traitement. L'avenir nous dira la portée et l'efficacité de cette méthode que théoriquement il faudrait encourager.

DEUXIEME PARTIE

L'IMMUNOFLUORESCENCE : APPLICATION AU DIAGNOSTIC DE LA TOXOPLASMOSE CHEZ LE CHIEN

Introduction.

L'immunofluorescence repose sur le principe de visualisation d'une réaction antigène-anticorps par des substances fluorescentes appelées fluorochromes.

On définit la fluorescence comme la propriété que possèdent certaines substances d'émettre un rayonnement quand elles sont soumises à l'excitation d'une lumière bleue ou ultraviolette : ce rayonnement est le plus souvent de plus grande longueur d'onde que la lumière excitatrice (loi de Stockes) et ne se manifeste que pendant que persiste l'excitation lumineuse. Si ce rayonnement propre se maintient encore pendant un certain temps avec une intensité notable, on dit qu'il s'agit de phosphorescence.

Cette technique, à la fois simple et élégante, est douée d'une grande sensibilité et présente l'immense avantage, pour sa réalisation, de n'avoir pas à isoler les antigènes puisqu'il est possible d'utiliser les toxoplasmes eux-mêmes. A noter que ces toxoplasmes sont tués et ne présentent donc pas de danger pour l'opérateur. Leur conservation est illimitée sous forme de frottis à — 70° C., placés au congélateur.

Les premiers travaux sur l'immunofluorescence remontent à 1930-1935 : Marak (35) constate que certains colorants peuvent être fixés sur un anticorps sans lui faire perdre sa spécificité pour l'antigène correspondant. En 1942, Coons et collaborateurs (11) remplacent les simples colorants par un fluorochrome : l'isocyanate de fluores-

céine qui constitue donc avec les immunoglobulines sur lesquelles il est fixé, un conjugué fluorescent qui devient visible en lumière ultra-violette, même à des concentrations très faibles. Coons et Kaplan (12) en ont précisé les détails techniques.

Depuis le travail princeps de Coons, diverses modifications sont intervenues concernant en particulier les substances fluorescentes utilisées :

— l'isothiocyanate de fluoresceine (F.I.T.C.) (Riggs, Seiwald et collaborateurs, 1958) (42). Ce nouveau corps, qui est plus facile à conjuguer, permet une stabilité supérieure du conjugué, une fluorescence plus grande et une meilleure sensibilité.

— La rhodamine lissamine B (RB 200) (8).

— L'acide 1 diméthyl-aminophtalène sulfonique (D.A.-N.S.) (10).

Le diagnostic de la Toxoplasmose par immunofluorescence a été introduit en France en 1963 par l'équipe lyonnaise du laboratoire de Parasitologie du professeur Coudert avec MM. Garin et Ambroise-Thomas (17). La méthode indirecte a été reprise par l'équipe toulousaine (47) qui l'utilise, d'une part, en temps que méthode sérologique de diagnostic et, d'autre part, pour les enquêtes épidémiologiques. C'est cette dernière que nous avons utilisée pour notre travail.

I. — *PRINCIPE DE L'IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE.*

Pratiquement, on met en contact des anticorps « marqués » avec un antigène connu et, après incubation, le conjugué en excès est éliminé par lavage et la préparation est examinée au microscope en lumière ultraviolette :

— s'il y a fluorescence, c'est que l'antigène aura fixé le complexe anticorps-conjugué et que donc l'anticorps était bien spécifique de l'antigène considéré ;

— dans le cas contraire, et en théorie tout au moins, la préparation demeure sombre et dans ce cas, l'anticorps marqué ne correspondait pas à l'antigène considéré.

Quatre méthodes permettent d'arriver à ce résultat.

Ce sont :

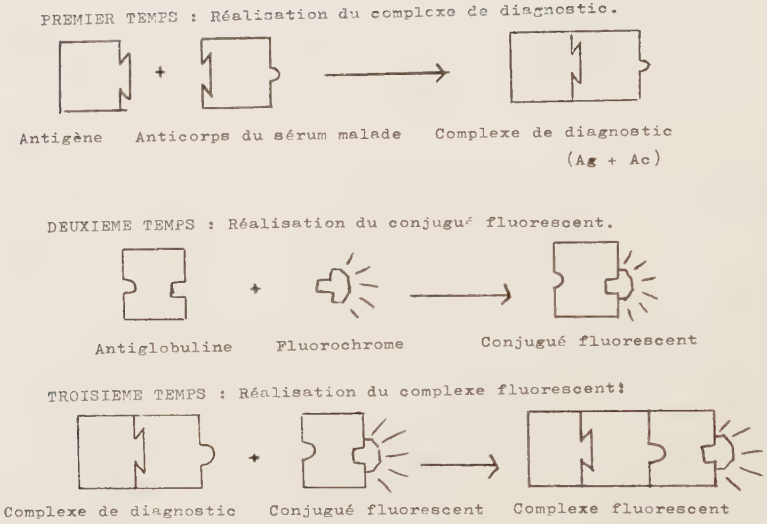
— la méthode directe, « à une couche ». (Coons et collaborateurs) ;

— la méthode indirecte. (Weller et Coons 1954) (52)

— la méthode d'inhibition. (Goldman 1957) (38)

— la méthode anticomplément. (Goldwasser et Shepard 1958) (21).

La méthode indirecte (52) est la plus couramment utilisée et elle permet de caractériser soit l'antigène, soit l'anticorps et avec une plus grande sensibilité que la méthode directe (39). Pour nous qui voulons indentifier l'anticorps, elle se déroule de la manière suivante :



Le problème des fluorescences non spécifiques a rendu plus difficile l'interprétation de cette réaction. Elles sont dues soit à la nature de l'antigène qui peut se révéler brillant spontanément, soit à l'antiglobuline insuffisamment purifiée. Pour le résoudre, on a recours à une contre-coloration par le bleu d'Evans (2), qui est facile à réaliser et qui n'augmente que très légèrement la durée de la réaction.

Malgré sa complexité apparente, cette méthode est simplifiée par le fait que l'antiglobuline marquée n'a pas de spécificité : elle est utilisable pour n'importe quel anticorps provenant de n'importe quelle espèce animale. On peut donc caractériser des antigènes ou des anticorps différents au moyen d'un seul réactif.

II. — *ETUDE DES DIFFERENTS ELEMENTS INTERVENANT DANS LA REACTION D'IMMUNOFLUORESCENCE.*

Ce chapitre nous amène à envisager le matériel biologique nécessaire à la réalisation de notre travail : antigènes, sérums à étudier, conjugués fluorescents auxquels s'ajoutent les contre-colorants nécessaires pour résoudre le problème des fluorescences non spécifiques dont nous avons déjà parlé.

L'antigène

Comme il a été dit plus haut, l'antigène est représenté par les toxoplasmes eux-mêmes, ce qui soulève le double problème de l'entretien du parasite au laboratoire et de l'obtention de l'antigène au moment voulu.

1° *Entretien du parasite au laboratoire :*

a) Entretien proprement dit.

Il peut se réaliser de plusieurs façons :

— Soit par passages en série sur souris, ce qui a en plus pour effet d'augmenter la virulence, tantôt de façon brutale, tantôt de façon progressive.

— Soit par passages répétés sur œufs embryonnés ou sur cultures de cellules, qui entretiennent la virulence sans la modifier.

Chez la souris, on peut conserver des souches avirulentes sans passage, tant que les animaux survivent. Les kystes sont faciles à retrouver dans le cerveau. Dans tous les cas, il faut s'assurer que ces animaux proviennent d'une souche séro-négative et exempte de Toxoplasmes. Les kystes intacts dans la chair d'animaux infectés peuvent être gardés à la température de 4 à 5° C. pendant plusieurs mois. La congélation est également possible mais pas très au point.

b) Mesures de sécurité.

Elle sont édictées par l'Organisation Mondiale de la Santé.

1° Le personnel doit être préalablement soumis à une épreuve de coloration pour rechercher les anticorps et on retiendra de préférence les personnes positives.

2° Le personnel doit porter lunettes et gants. Il doit être séparé des animaux par un écran de verre.

3° Des solutions de désinfectants doivent se trouver tout près du lieu de manipulation. En cas d'accident, les endroits atteints doivent être soigneusement lavés à l'eau et au savon.

4° Si le sujet est positif, il n'y aura pas besoin de traitement, mais dans le cas contraire, il faudra en instituer un. En général, celui-ci est à base de pyriméthamine et de sulfadiazine.

2° *Obtension de l'antigène :*

Nous avons eu à notre disposition, provenant du service de Parasitologie de la Faculté de Médecine de Toulouse (Pr. LARROUY et Dr J.-P. SEGUELA), toutes les lames d'antigène indispensables à la réalisation de notre travail. N'ayant pas eu à affronter ce problème, nous ne l'exposerons qu'assez succinctement.

La qualité de l'antigène est un facteur essentiel de la réaction. Pour nous, l'antigène est représenté par des toxoplasmes venant d'ascite de souris infectées par voie intra-péritonéale au moyen de la souche RH de SABIN. Mais la qualité antigénique des toxoplasmes varie d'une ascite à l'autre. Il faut donc préciser la marche à suivre pour parvenir, si possible, à une standardisation de l'antigène.

a) Inoculation aux souris.

La souche RH de SABIN est entretenue sur souris SWISS par passage tous les trois jours. Cette durée de trois jours est la durée optimale pour éviter l'altération de l'activité antigénique des parasites, qui diminue régulièrement avec l'ancienneté de l'inoculation. Les toxoplasmes inoculés se multiplient très vite dans l'endothé-

lium péritonéal des souris utilisées. Les souches dépourvues de virulence peuvent se comporter de la même manière après plusieurs passages rapides ou chez des animaux auxquels on a administré des corticostéroïdes.

Au moment de la préparation de l'antigène, on recueille tous les liquides prélevés sur les souris inoculées, puis on titre le mélange obtenu sur la base de 0,1 ml pour un million de toxoplasmes, soit environ 40 toxoplasmes par champ microscopique pour un microscope Wild M. 20, objectif 40, oculaire 8. On inocule 0,2 ml du liquide obtenu à chaque animal et, 60 heures après, les liquides d'ascite formés sont recueillis.

b) Préparation de l'antigène.

Ce temps d'isolement des toxoplasmes est essentiel, car

— le liquide d'ascite présente un pouvoir inhibiteur ;

— l'ascite renferme une certaine quantité d'antigène soluble : on s'en rend compte par la fluorescence de fond, observée sur les préparations de toxoplasmes non lavés ;

— les leucocytes entraînent une fluorescence non spécifique qu'il faut éliminer.

C'est pourquoi, on pratique pour isoler les toxoplasmes, et comme l'a préconisé GOLDMAN, une centrifugagation différentielle avec comme diluant de l'eau physiologique pure :

— une centrifugation à 500 tours par minute a pour but de séparer les toxoplasmes (dans les surnageants) des leucocytes et cellules péritonéales desquamées (dans les culots) ;

— le surnageant étant recueilli, une centrifugation à 3 000 tours par minute a pour but de séparer au maximum les toxoplasmes (dans les culots) des antigènes solubles (dans les surnageants).

c) Obtention d'une concentration satisfaisante en toxoplasmes.

Toute réaction sérologique suppose un équilibre entre différents facteurs et en premier lieu entre les quantités d'antigène et d'anticorps mis en présence.

La concentration en antigène doit répondre à un double impératif :

— être suffisante pour ne pas avoir à chercher de toxoplasmes sur la préparation ;

— ne pas être excessive car il semble bien qu'un excès de toxoplasmes abaisse le titre des sérums étudiés.

La concentration optimale est de l'ordre de 2 500 toxoplasmes par mm3 de suspension, ce qui correspond à une densité de 80 à 100 par champ microscopique (Microscope Wild M. 20 - Objectif 40 - Oculaire 8) (17).

d) La préparation des lames.

Ces éléments antigéniques recueillis peuvent être utilisés sous forme de suspension comme le font Boisseau, Moulinier et Joigny (6). Ce procédé améliore le contact antigène-anticorps. Par contre, la nécessité d'effectuer des réactions en tubes entraîne un gaspillage inévitable du matériel parasitaire et un allongement sensible de la durée de la réaction, qui devient difficilement utilisable sur une vaste échelle.

C'est pourquoi, nous avons utilisé pour notre travail l'antigène fixé sur lames. C'est la méthode de Goldman, la plus valable à l'heure actuelle.

On utilise des lames de verre d'épaisseur inférieure à 1 mm sur lesquelles on grave deux cercles de 1 cm de diamètre et un numéro d'ordre. Placé toujours dans le même angle de la lame, ce numéro permet de repérer non seulement la lame, mais encore le côté sur lequel a été fait l'étalement. Ensuite, on dépose une goutte de la suspension de toxoplasmes au centre de chaque cercle qui sert à repérer l'étalement. Les lames sont alors mises à sécher à l'étuve 37° C. pendant 1 h 30 à 2 heures.

Les lames, placées ensuite dans des boîtes, sont conservées à la température ordinaire dans la mesure où on les utilise dans le mois qui suit leur préparation, sinon une température de — 70° C. assurera leur conservation pour une durée illimitée.

La bonne conservation de l'antigène ainsi obtenu présente un double intérêt :

— elle permet de réaliser un important gain de temps

puisqu'une même suspension peut être utilisée pour plusieurs séries de manipulations ;

— malgré toutes les précautions, certains antigènes se révèlent meilleurs que d'autres, et il est intéressant de pouvoir les conserver.

D'autres moyens de conservation de l'antigène ont été préconisés, mais ils s'avèrent moins efficaces et plus difficiles à mettre en œuvre. Nous ne les citons ici que pour mémoire :

— les suspensions utilisant du sérum physiologique ou des solutions antiseptiques :

— la lyophilisation.

e) Fixation des antigènes.

C'est une étape importante qui a pour but de rendre insolubles certains constituants antigènes, de fixer, au sens histologique du terme, la structure des éléments étudiés et d'augmenter l'adhérence de ces éléments à la surface des lames.

De nombreux fixateurs ont été utilisés, parmi lesquels le formol, l'acide chlorydrique, l'éthanol, le méthanol, l'acétone. La plupart de ces produits sont employés dans des conditions de concentration, de durée et de température qui varient sensiblement avec les auteurs.

Pour notre part, suivant la technique d'Ambroise-Thomas, nous avons utilisé un bain d'acétone pendant dix minutes à la température du laboratoire. Ce fixateur donne d'excellents résultats et si certains auteurs ont signalé des risques de fluorescence non spécifique, c'est selon Ambrois-Thomas dû à l'emploi d'une acétone pure.

Cette fixation se pratique juste avant l'emploi de l'antigène.

Les sérums étudiés

Avec des prélèvements effectués sur des anticoagulants, des réactions non spécifiques peuvent apparaître. Il est donc préférable d'utiliser les sérums.

Dès qu'ils ont exsudé, les sérums sont décantés et centrifugés d'autant que, chez le chien, le sang prélevé a une

fâcheuse tendance à s'hémoliser et expose de ce fait à des phénomènes de fluorescence parasite.

Les prélèvements systématiques de sang que nous avons effectués stérilement sur les chiens hospitalisés à l'Ecole Vétérinaire de Toulouse, ont été conservés au congélateur à — 70° C. jusqu'au moment de leur utilisation lorsque celle-ci n'était pas immédiate. Pour des examens hebdomadaires, ils étaient conservés à + 4° C.

Le conjugué

Il constitue évidemment l'élément fondamental de la réaction. Au cours de notre expérimentation, nous avons utilisé le sérum fluorescent antiglobuline de chien préparé par l'Institut Pasteur à partir d'un mélange de sérums de lapin purifiés et conjugués à l'isothiocyanate de fluorescéine.

Nous n'avons pas eu de problème avec ce produit conservé à l'abri de la lumière à + 4° C. et utilisé en dilution au 1/20e, le diluant étant de l'eau physiologique pure. Cependant, nous allons indiquer comment il est obtenu.

1° *L'anticorps :*

Il est fourni par un sérum immun ou mieux hyperimmun. On utilise un sérum anti γ globulines (sérum antiglobulines anticorps) préparé comme pour toute autre méthode sérologique. Cependant, pour obtenir un taux suffisant d'anticorps, la préparation de sérum anti γ globulines nécessite l'apport d'un adjuvant, le plus souvent l'adjuvant de Freund. Ici, les anti γ globulines de chien sont préparées sur le lapin.

Etant en possession d'une globuline anticorps, il faut choisir le fluorochrome marqueur.

2° *Le fluorochrome :*

La microscopie en fluorescence exige d'un fluorochrome une émission fluorescente intense dans la zone visible du spectre et une couleur contrastant avec la fluorescence propre de la préparation.

De nombreux fluorochromes ont été utilisés (voir plus haut) mais peu d'entre eux se montrent valables pour la conjugaison aux protéines.

Ici, le fluorochrome retenu est l'isothiocyanate de fluorescéine (F.I.T.C.).

3° *La conjugaison :*

Elle conduit à la fixation du fluorochrome sur la globuline anticorps. Elle peut porter sur le sérum entier, mais il est préférable de n'utiliser que la fraction globulinique de celui-ci, ce qui permet de diminuer ultérieurement la fluorescence non spécifique et d'économiser le fluorochrome.

L'addition du fluorochrome à la solution de globulines doit être progressive, le pH devant être maintenu à 9. On incorpore généralement 0,05 mg de F.I.T.C. à 1 mg de protéines et on agite le mélange pendant 18 heures en évitant de faire de la mousse.

4° *Purification du conjugué :*

De nombreuses substances indésirables doivent être éliminées du mélange :

— les molécules de fluorochrome hydrolysées, les substances fluorescentes qui peuvent accompagner ce fluorochrome et qui sont responsables d'une fluorescence non spécifique. On les élimine par adsorption sur poudre de charbon de bois et filtration sur gel de dextrane ;

— les molécules de protéines sériques non antiglobulines du conjugué, responsables d'une coloration non spécifique (c'est-à-dire ne correspondant pas à la réaction antigène-anticorps).

5° *Propriétés du conjugué :*

— L'intensité de la fluorescence des conjugués de la fluorescéine présente un maximum à pH 8.

— Les propriétés physiques de la protéine sont peu modifiées.

— Les propriétés anticorps ne sont le plus souvent que faiblement altérées.

— Le pouvoir antigénique est à peine modifié : la conjugaison des molécules de fluorochrome confère aux protéines supports une antigénicité additionnelle.

Le contre-colorant

En immunofluorescence, l'antigène est fluorescent lorsque la réaction est positive. Il devrait rester sombre dans le cas contraire. En pratique, il n'en est jamais exactement ainsi, car il existe de nombreuses causes de fluorescence non spécifique, à commencer par chacun des éléments de la réaction. Nous avons souligné l'importance d'une bonne purification de ceux-ci. Des fluorescences non spécifiques peuvent également résulter de l'autofluorescence des antigènes figurés ou de la fixation d'anticorps non spécifiques contenus dans les sérums examinés.

La plupart des contre-colorants employés ont une teinte rouge en lumière ultraviolette et masquent les fluorescences parasites.

Le premier utilisé fut l'albumine de bœuf conjugué à la Rhodamine (R.B.A.). Mais, il prolonge de manière excessive la durée de la réaction. Nous utilisons le bleu d'Evans, que préconise l'équipe lyonnaise ; il a fait ses preuves dans le diagnostic par immunofluorescence du Trachome (40), puis dans celui de l'Amibiase.

La solution mère de bleu d'Evans est à une concentration de 1/100^{e} dans du tampon à pH 7,2 et se conserve à l'abri de la lumière. Au moment de l'emploi, on prépare une solution au 1/10 000^{e} avec de l'eau distillée.

III. — *MODE OPERATOIRE DE LA REACTION D'IMMUNOFLUORESCENCE.*

La méthode indirecte a été décrite dans ses grandes lignes plus haut. Elle se déroule, en trois temps, mais le deuxième temps est ici supprimé, puisque nous trouvons le conjugué fluorescent tout prêt dans le commerce. Pratiquement, ce mode opératoire comporte donc seulement deux temps, complétés par l'examen microscopique des lames.

Réalisation du complexe de diagnostic

1° *L'antigène :*

Nous utilisons les lames préparées selon le protocole décrit plus haut.

Au moment de l'emploi de ces lames, il faut graver dessus des points de repère :

Première lame : en haut à droite : numéro d'ordre du sérum, en chiffres romains ;

— en bas à droite : numéro de la première dilution
— en bas à gauche : numéro de la deuxième dilution (en chiffres arabes)

Deuxième lame : en haut à droite : numéro d'ordre du sérum en chiffres romains ;

— en bas à droite : numéro de la troisième dilution
— en bas à gauche : numéro de la quatrième dilution (en chiffres arabes)

Troisième lame : en haut à droite : numéro d'ordre du sérum en chiffres romains ;

— en bas à droite : numéro de la cinquième dilution
— en bas à gauche : numéro de la sixième dilution (en chiffres arabes)

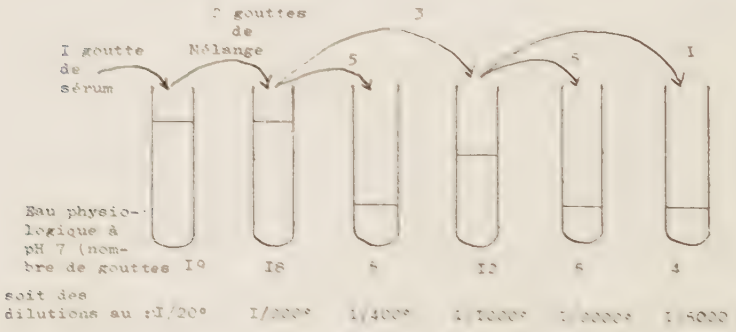
Chaque serum comportant six dilutions, il faut utiliser trois lames comportant chacune deux dilutions.

Ces etalements d'antigènes toxoplasmiques doivent être ensuite fixes. On les immerge pour ce faire dans un bain d'acetone pendant dix minutes ; les lames sont ensuite disposées sur des portoirs horizontaux.

2° *L'anticorps :*

Sauf en ce qui concerne les serums de reference, la reaction doit être effectuee après une conservation des sérums aussi limitée que possible.

Ceux-ci subissent des dilutions successives dans du tampon phosphate à pH 7,2. La dilution initiale correspond à un seuil à partir duquel des reactions croisees non specifiques ne risquent plus d'être observees. Pratiquement, nous opérons de la manière suivante :



3° *Réaction :*

Les dilutions sont reparties sur chaque étalement antigenique de façon à les recouvrir. Pour chaque série d'examen, il faut prévoir trois témoins :

— Lame I : témoin positif, dilué de manière à avoir une fluorescence à quatre croix et à deux croix qui seront l'échelle d'intensite de la fluorescence. Il est parfois difficile de trouver un sérum de chien riche en anticorps et il convient donc, lorsqu'on en a trouvé un, de le conserver.

— Lame II : témoin négatif (pas de sérum).

— Lame III : un témoin antigène qui correspond à une lame uniquement traitée avec le conjugué fluorescent. Il a pour but d'éliminer un conjugué qui contiendrait des anticorps spécifiques antitoxoplasmiques.

A partir de la lame IV, nous allons répartir les différentes dilutions de nos sérums de la manière suivante :

— Lame IV : première dilution (du premier sérum inconnu) dans le cercle droit ; deuxième dilution du même sérum dans le cercle gauche.

— Lames V et VI : dilutions suivantes jusqu'à la sixième (1/5 000e).

Ainsi de suite pour chaque sérum à étudier.

Les lames sont alors placées à l'étuve à 37° C. en atmosphère humide pendant une demi-heure. C'est à ce moment-là que se réalise le complexe de diagnostic.

Réalisation du complexe fluorescent

Cette demi-heure étant écoulée, on place les lames dos à dos dans des paniers en verre et on les lave en les plongeant dans deux bains successifs d'eau tamponnée à pH 7,2 à raison de 5 mn par bain.

A la fin du second bain, les lames sont essuyées sur leur face antérieure en respectant les cercles gravés. On les redispose alors sur leur portoirs horizontaux où elles sont prêtes à recevoir la solution conjugué-contre-colorant.

Pour préparer cette solution, il faut d'abord pratiquer une dilution au 1/20e du conjugué, soit pour 15 sérums :

20 gouttes de conjugué, soit 0,4 ml
380 gouttes d'eau physiologique, soit 8,6 ml } Total 9 ml

Il faut ensuite ajouter le bleu d'Evans au 1/10 000e, soit ici 1 ml. Nous avons donc préparé 10 ml de solution conjugué-contre-colorant, que nous répartissons maintenant sur chacun des cercles gravés de nos lames.

Pour obtenir le complexe fluorescent, on remet ces lames en incubation dans les mêmes conditions que pour la réalisation du complexe de diagnostic.

Ces lames sont alors à nouveau lavées et séchées comme précédemment et sont prêtes à être montées.

Le montage des préparations s'effectue avec de la glycérine pure à pH 7,2 de chez Merck. On peut alors commencer la lecture.

Si cette lecture doit être différée, P. Ambroise-Thomas (1) conseille de conserver les préparations à l'obscurité à + 4° C, mais ce délai ne devra pas excéder quelques jours. On pourra l'augmenter sensiblement en conservant les lames simplement séchées, non montées sous glycérine tamponnée. Pour notre part, nous avons conservé, avant de les lire, des préparations pendant plusieurs mois sans tenir compte ni de la lumière, ni de la température du laboratoire. Les résultats nous ont paru aussi bons.

IV. — *INTERPRETATION DES RESULTATS.*

Installation microscopique

Nous avons utilisé pour notre travail un microscope orthoplan Leitz équipé pour l'examen en fluorescence (voir le schéma).

1° *La source lumineuse :*

Il faut que sa puissance de rayonnement soit la plus grande possible. Nous utilisons une lampe à vapeur de mercure à haute pression Osram HBO 250 Watts. Il faut la ventiler pour assurer le refroidissement car elle dégage une très grande quantité de chaleur.

2° *Les filtres :*

Ils sont de trois types :

— Filtres d'excitation, qui ne laissent passer que le rayonnement d'excitation émis par la lampe à haute pression et arrêtent toute la partie de ce rayonnement qui appartient au spectre visible.

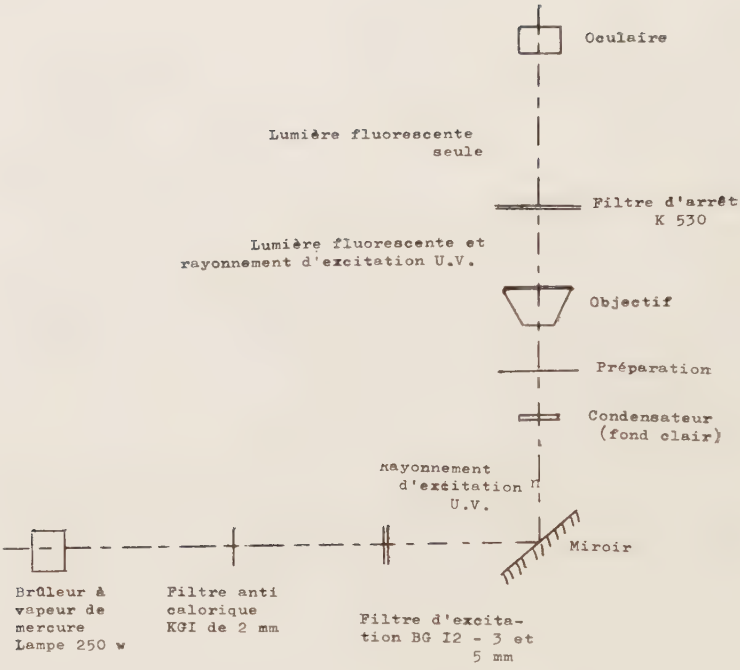
— Filtres d'arrêt, qui laissent passer la lumière fluorescente émise par la préparation et arrêtent le rayonnement d'excitation.

— Filtre anticalorique interposé à la sortie de la source lumineuse.

3° *L'optique :*

La faible intensité de la lumière fluorescente émise nécessitera un système objectif simple pour capter le maximum de cette fluorescence et, dans tous les cas, on doit utiliser des objectifs non fluorescents.

L'observation se fait selon les modalités classiques : « à sec » ou « à l'immersion » en utilisant dans ce dernier cas une huile non fluorescente.



Lecture des lames

1° *Lecture :*

Compte tenu des risques de fluorescence non spécifique, la lecture des réactions s'effectue en prenant comme élément de référence l'ensemble des lames témoins.

Un examen sera considéré comme positif si l'antigène toxoplasmique caractéristique en forme de croissant ou de fuseau apparaît rouge sombre, entouré d'un halo vert plus ou moins fluorescent selon l'intensité de la positivité de la réaction. Les dilutions successives du sérum permettent de quantifier la réaction et de déterminer le taux pour lequel elle devient négative. Nous avons retenu pour l'expression des résultats un nombre de croix (+) correspondant à l'intensité de la fluorescence.

Un examen sera considéré comme négatif si l'antigène examiné en lumière ultraviolette reste sombre.

2° *Interprétation :*

L'intensité de la fluorescence est difficile à chiffrer et

c'est ce qui pose le principal problème de l'interprétation car il n'y a pas d'échelle de lecture : l'œil est seul juge et il faut une grande quantité de manipulations pour arriver à se fixer des normes, qui par ailleurs risquent de subir autant de variations qu'il y aura de lecteurs.

En toute rigueur, il serait nécessaire de bien préciser à partir de quel moment une réaction même faible peut être considérée comme positive. Ceci s'explique par la nature même de la réaction d'immunofluorescence, qui est un phénomène quantitatif et ne se négative totalement que de façon progressive. En fait, on distingue presque toujours les parasites, si bien qu'il faut se rabattre sur d'autres critères d'appréciation et pratiquement une fluorescence spécifique correspondant à un résultat positif s'affirme comme telle, sans que l'on ait besoin « d'interpréter » ce que l'on observe. A ce moment, les parasites présentent une fluorescence surtout nette au niveau de leur enveloppe externe et de leurs extrémités, tandis que le corps toxoplasmique paraît légèrement plus sombre.

Devront être considérées comme négatives les réactions dans lesquels les toxoplasmes apparaissent rouges ou bruns foncés (coloration due au bleu d'Evans) sur fond noir ou bien couverts d'une fluorescence homogène pouvant parfois être particulièrement intense, mais qui, dans tous les cas, correspond à une réaction non spécifique. Dans ce cas, il faudra recommencer l'examen.

Il est parfois difficile de faire la différence entre une fluorescence faible et une réaction non spécifique. Sur l'un des étalements antigéniques d'une lame, on fera alors agir le sérum suspect tandis que, sur l'autre, on replacera le même sérum après l'avoir saturé de toxoplasmes. Si sur ce second étalement on ne note plus aucune fluorescence, c'est qu'effectivement nous étions en présence d'une réaction faiblement positive.

TROISIEME PARTIE

L'ENQUETE SEROLOGIQUE ET SES RESULTATS

I. — *LE CADRE DE L'ENQUETE.*

Notre enquête s'est déroulée sur des chiens hospitalisés à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. Issus de différentes régions, ils provenaient essentiellement du Sud-Ouest et se répartissaient de la façon suivante :

Haute-Garonne : 165 (dont Toulouse 120)
Basses-Pyrénées : 2
Hautes-Pyrénées : 12
Pyrénées-Orientales : 2
Tarn : 8
Tarn-et-Garonne : 5
Lot : 1
Lot-et-Garonne : 1
Gers : 2
Ariège : 3
Aude : 1
Andorre : 6
Indre-et-Loire : 3
Haute-Saône : 1

soit un total de 212 sérums examinés.

Ces examens ont été effectués sur des chiens de toutes races, dont l'âge variait de 3 mois à 14 ans et qui étaient hospitalisés en clinique de Médecine, Chirurgie et Parasitologie pour une affection quelconque.

Les prélèvements ont eu lieu entre février 1970 et février 1971. Ceux-ci ayant été irrégulièrement effectués dans le temps, avec en particulier une coupure correspondant aux 3 mois d'été, nous avons jugé inutile d'étudier une répartition des infections en fonction des douze mois de l'année, répartition qui n'aurait pas été significative.

En bilan, notre échantillonnage paraît répondre aux normes requises : il est suffisant pour tirer des conclusions statistiquement significatives et semble être représentatif pour l'infection que nous avons cherché à étudier.

A partir des résultats obtenus, nous avons tenté de mettre en évidence un certain nombre de données :

1° La répartition et la gravité de l'affection dans une population : quel est le pourcentage de chiens contaminés dans le Sud-Ouest de la France ?

2° Une corrélation possible entre le sexe des sujets et leur réponse à la réaction immunologique.

3° Le taux des anticorps antitoxoplasmiques en fonction de l'âge des animaux concernés.

4° Une relation éventuelle entre la répartition de l'infection toxoplasmique et l'utilisation du sujet : chien de garde, chien de compagnie, chien de chasse (courant ou d'arrêt).

5. La confirmation de ce qui est déjà parfaitement connu en rapportant et discutant quelques observations ayant, en particulier, trait aux symptômes de la maladie et à la cinétique des anticorps.

II. — *EVALUATION GLOBALE DE L'INCIDENCE DE LA TOXOPLASMOSE.*

Le tableau ci-dessous mentionne la répartition des examens en fonction de la dilution des sérums et du sexe des animaux recensés.

Ces résultats sont matérialisés différemment pas l'histogramme de la page suivante, sur lequel nous avons porté :

— en abscisse les différentes dilutions des sérums étudiés en débutant par les résultats négatifs ;

— en ordonnée le pourcentage de sérums correspondant à chacune de ces dilutions.

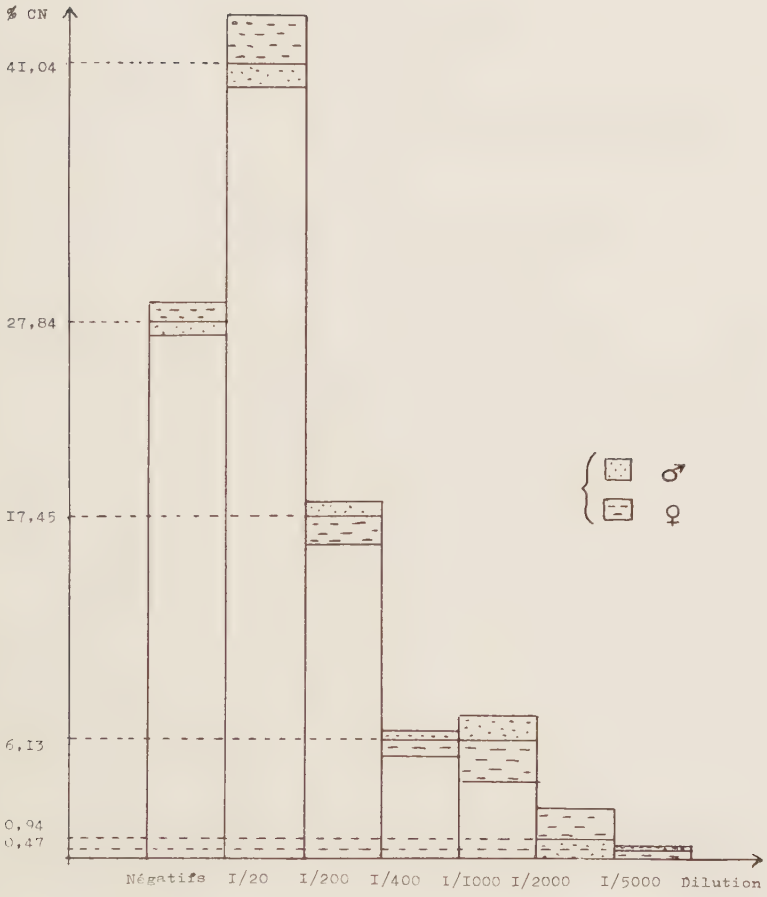
Conclusions

1° Seulement 27,84 % des 212 chiens examinés n'ont jamais été en contact avec le Toxoplasme. Donc plus de 72 % répondent positivement à l'infestation, ce qui représente la limite supérieure de ce qu'on observe en France. Ceci peut venir du fait que la plupart des chiens étaient citadins, alors que l'infestation est moins marquée en milieu rural qu'urbain. Cependant, si nous mettons en parallèle ces résultats avec ceux observés chez l'Homme, nous notons dans une étude réalisée dans le Sud-Ouest (48) que 87 % des observations sont positives. Cette région du territoire semble donc être assez concernée par la Toxoplasmose.

2° 41,04 % des sérums étudiés, soit près de la moitié, ne présentent pas d'immunofluorescence à une dilution supérieure au $1/20^{e}$. 17,45 %, se positivant au $1/200^{e}$, viennent s'y ajouter pour traduire un contact ancien ou léger avec le Toxoplasme. Il ne faut donc pas en tenir compte pour dresser un diagnostic de Toxoplasmose-maladie, mais ce total de 58,49 % peut déjà être néfaste à son entourage puisque les chiens concernés peuvent faire une

TABLEAU I

Dilutions	Négatif	1/20e	1/200e	1/400e	1/1 000e	1/2 000e	1/5 000e	Total
Mâles	37	54	25	9	10	0	1	136
%	27,21	39,70	18,38	6,62	7,35	0	0,74	100
Femelles	22	33	12	4	3	2	0	76
%	28,95	43,43	15,79	5,26	3,95	2,63	0	100
Total	59	87	37	13	13	2	1	212
%	27,84	41,04	17,45	6,13	6,13	0,94	0,47	100



forme inapparente et éliminer des parasites.

3° Du 1/400e au 1/5 000e, 13,67 % des résultats sont positifs et se situent dans la zone des taux traduisant un pourcentage élevé d'anticorps qui signe :

— soit une infestation récente,

— soit une réinfestation permanente,

— soit une Toxoplasmose aiguë, ce qui s'est révélé exact dans les 3 cas extrêmes enregistrés : celui au 1/5 000e et les 2 au 1/2 000e.

4° Les résultats inscrits sur le tableau I ne permettent pas de dégager une corrélation possible entre le sexe des sujets et la positivité de la réponse. En effet, les écarts

entre les mâles et les femelles ne sont jamais supérieurs à 4 %, ce qui n'est pas significatif.

Nous ferons donc la suite de notre travail sans tenir compte du sexe de nos animaux.

III. — *REPARTITION DE L'INFECTION TOXOPLASMIQUE EN FONCTION DE L'AGE.*

Pour permettre une étude plus facile de la variation du taux des anticorps en fonction de l'âge, nous avons réparti nos sérums en 5 groupes (Tableau II) :

— Groupe I : sujets n'ayant pas d'anticorps spécifiques décelables : 59 observations.

— Groupe II : sujets positifs à une dilution égale au 1/20^{e} : 87 observations.

— Groupe III : sujets positifs au 1/200^{e} : 37 observations.

— Groupe IV : sujets positifs au 1/400^{e} : 13 observations.

— Groupe V : sujets positifs au 1/1 000^{e} : 13 observations.

Nous n'avons pas considéré les dilutions supérieures du fait du peu d'observations que nous pouvions y insérer.

Pour chacun de ces 5 groupes, nous avons dressé une courbe (Courbes I, II, III, IV, V) en prenant :

— pour abscisse l'âge des sujets,

— pour ordonnée, le pourcentage d'observations concernant ladite dilution par rapport à l'ensemble des observations de sujets de même âge.

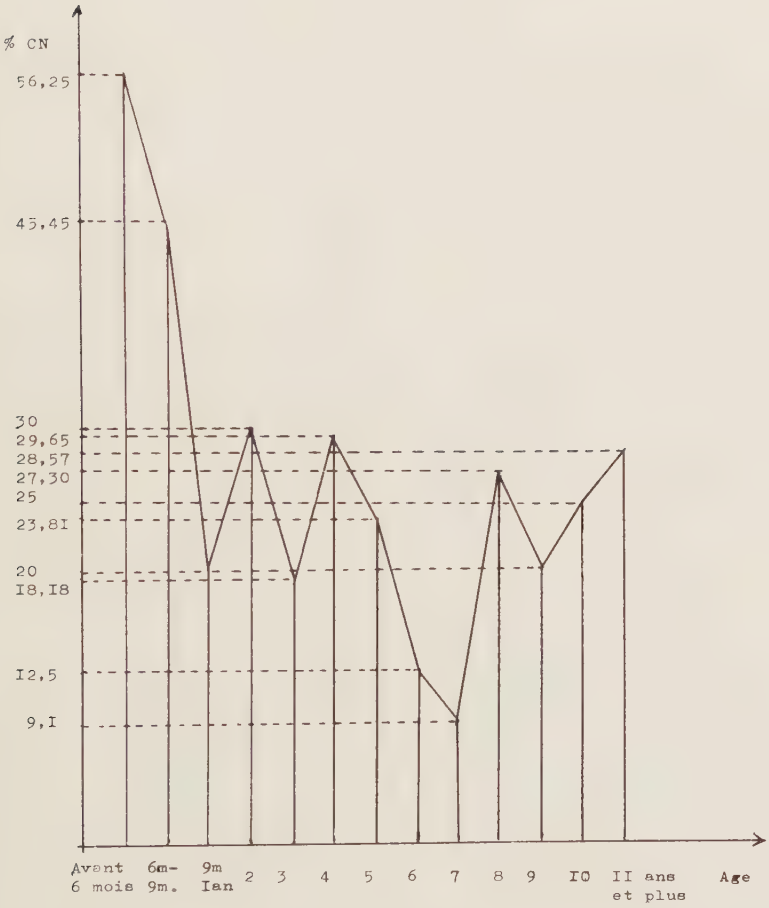
TABLEAU II

Classement des observations en fonction de l'âge.

Dilution / Âge	Négatifs	1/20e	1/200e	1/400e	1/1 000e	1/2 000e	1/5 000e
Moins de 6 mois	9	4	2	1			
De 6 à 9 mois	10	9	3				
De 9 mois à 1 an	4	10	5	1			
2 ans	9	15	3				
3 ans	4	11	5	1	1	2	
4 ans	8	6	7	3	1		
5 ans	5	8	2	3	3		1
6 ans	2	12	2		2		
7 ans	1	2	3	3			
8 ans	3	5	2		2		
9 ans	1	2		1	1		
10 ans	1				1		
11 ans	1	1			1		
12 ans		1					
13 ans		1	1		1		
14 ans	1						
TOTAL	59	87	37	13	13	2	1

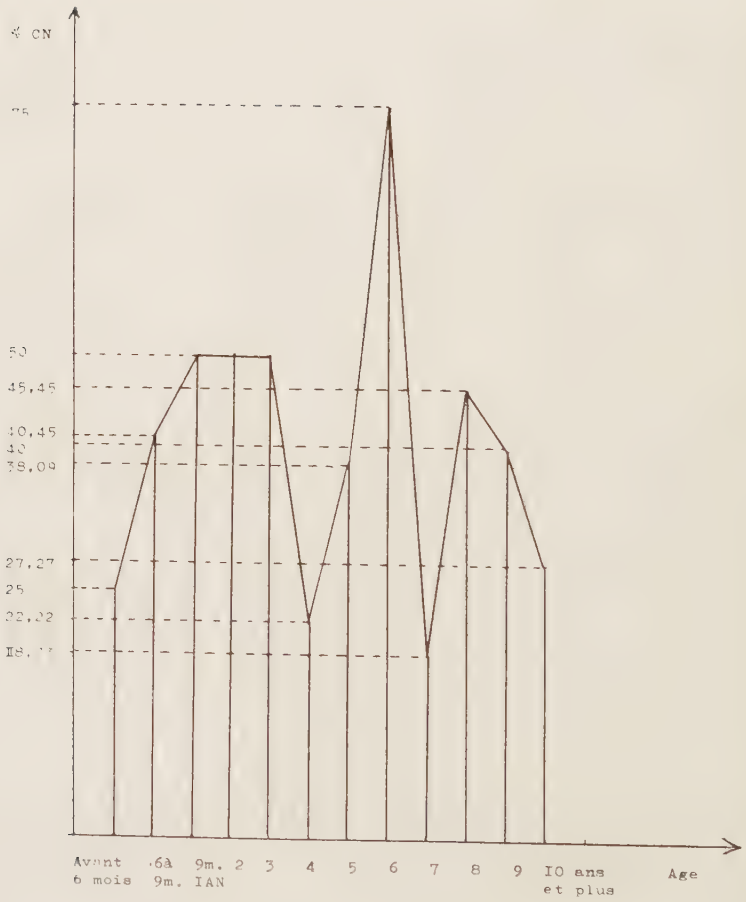
COURBE I

Pourcentage de chiens négatifs en fonction de l'âge.



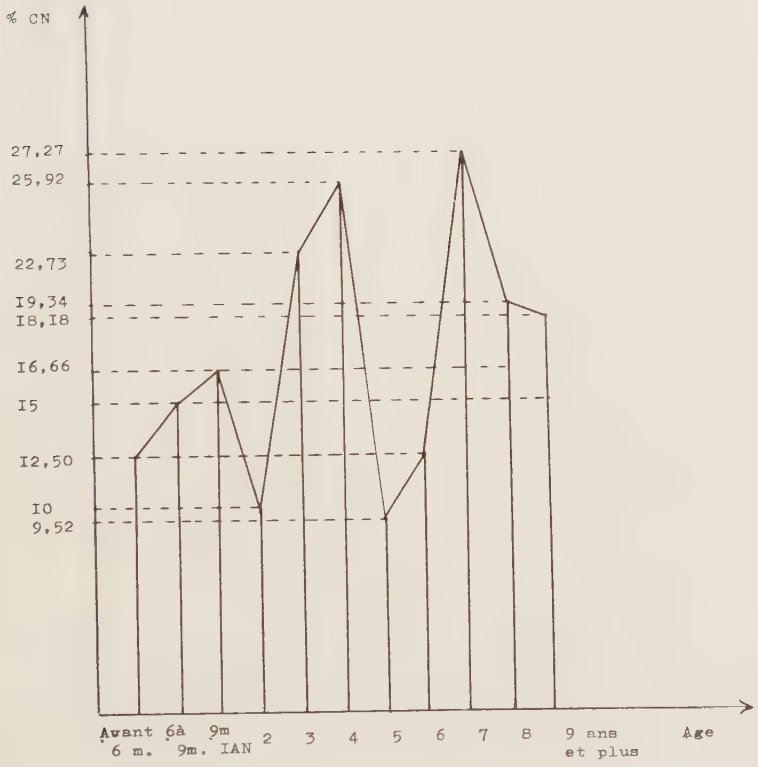
COURBE II

Pourcentage de chiens positifs au 1/20e en fonction de l'âge.



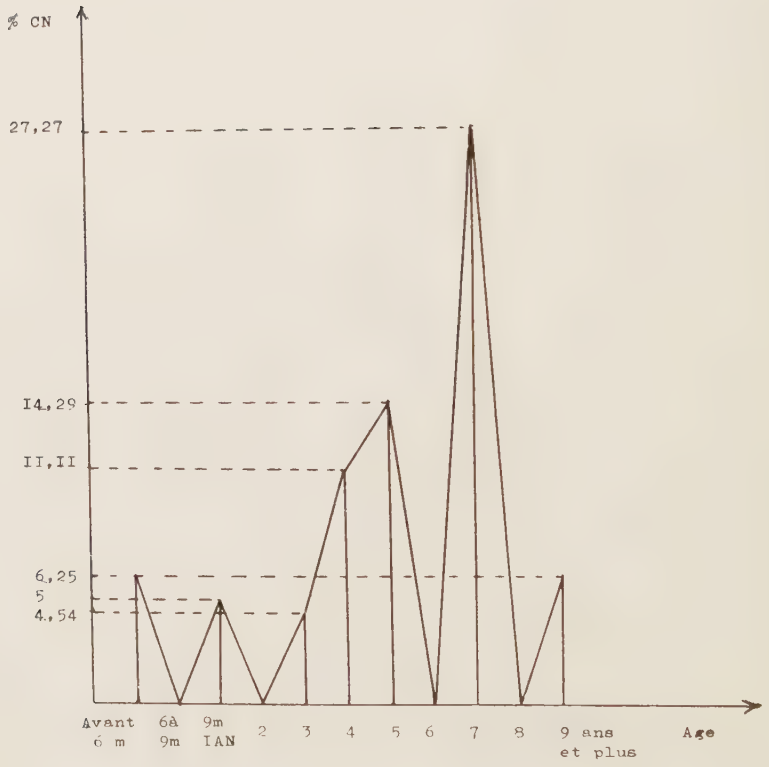
Courbe III

Pourcentage de chiens positifs au 1/200e en fonction de l'âge.



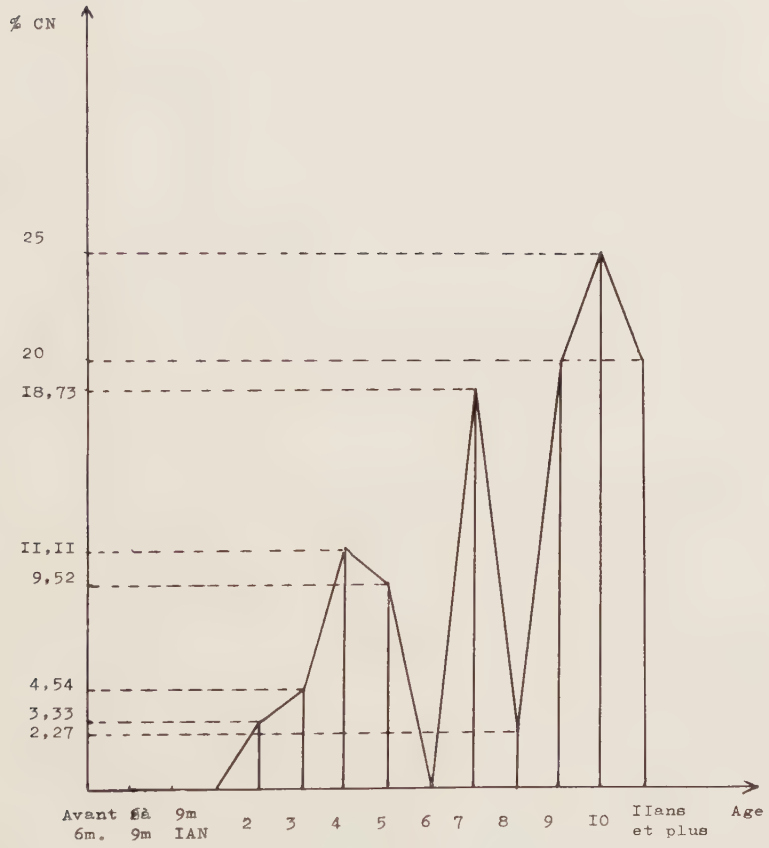
COURBE IV

Pourcentage de chiens positifs au 1/400e en fonction de l'âge.



COURBE V

Pourcentage de chiens positifs au 1/1 000e en fonction de l'âge.



Analyse des résultats

Cette série de courbes est riche de remarques, elle est surtout très démonstrative.

1° Si nous considérons la classe des chiens âgés de moins de 6 mois :

— 56,25 % n'ont jamais connu l'infection.

— 25 % ne dépassent pas le 1/20e.

— 12,5 % seulement sont positifs au 1/200e.

— 6,25 % arrivent au 1/400e et aucun des sérums examinés ne le dépasse.

2° Des modifications progressives interviennent dans ce profil au fur et à mesure que nos sujets grandissent. A neuf mois, il n'y a plus que 45,45 % des sujets négatifs. A un an :

— seulement 20 % de nos chiens sont encore négatifs ;

— en revanche, nous obtenons déjà un taux de 50 % de sérums positifs au 1/20e ;

— cependant, au 1/200e, ils ne sont encore que 16,66 % à réagir positivement ;

— ils sont 5 % au 1/400e et ne dépassent pas ce titre.

3° Jusqu'à 4 ans, il n'y a pas plus de chiens qui s'infestent, mais l'intensité de la réaction de ceux qui le sont, augmente :

— au 1/20e, il n'y en a plus que 22,22 %,

— mais au 1/200e, on relève un taux de 25,92 %,

— un taux de 11,11 % au 1/400e que l'on retrouve au 1/1 000e.

4° Après 5 ans, le pourcentage des sujets infestés augmente, ainsi que la gravité de cette infestation. Ainsi à l'âge de 7 ans :

— 9,1 % des chiens sont négatifs,

— 18,73 % sont positifs au 1/20e,

— 27,27 % le sont au 1/200e,

— on retrouve ce même taux au 1/400e,

— au 1/1 000e, 18,73 % des sérums examinés se révèlent positifs. Un tel pourcentage à ce taux non négligeable nous paraît considérable à cet âge-là.

5° Cette tendance s'accentue par la suite pour culminer vers l'âge de 10 ans où 25 % des sujets sont positifs au 1/1 000e. Mais, par la suite, ce taux semble décroître (Cf. courbe de dilutions au 1/1 000e). Cette baisse des anticorps circulants pourrait être en rapport avec la diminution globale de l'anabolisme protidique comme l'ont déjà signalé divers auteurs à d'autres propos.

En conclusion, toute cette étude se résume très simplement en constatant que le pourcentage des animaux infestes augmente avec leur âge et que la gravité de cette infestation augmente dans le même sens.

IV. — *REPARTITION DE L'INFECTION TOXOPLASMIQUE EN FONCTION DE L'UTILISATION DES SUJETS.*

Il est intéressant de connaître l'incidence que peut avoir le service d'un chien sur la possibilité pour celui-ci de contracter une infection toxoplasmique. Dans cette optique, nous avons divisé nos observations en quatre groupes recouvrant les différentes modalités d'utilisation des chiens.

— Groupe I : chiens de garde, regroupant en particulier des chiens de défense (Berger Allemand, Groenendael, Dobermann) et des chiens de berger (Beauceron, Bouviers, Bergers).

— Groupe II : chiens de compagnie regroupant en particulier des Caniches, Dalmatiens, Boxers, Lévriers, Colley...

Enfin, les chiens de chasse que la grande quantité de nos observations a permis de diviser en deux groupes :

— Groupe III : chiens d'arrêt regroupant les Epagneuls, Spaniels, Braques, Pointers, Setters, Griffons, Korthals...

— Groupe IV : chiens courants : Poitevins, Ariégeois, Bleus de Gascogne, Beagles, Teckels (plutôt chiens courants que chiens de compagnie)...

Dans chacun de ces groupes, nous avons classé nos observations en fonction des dilutions, d'où le tableau III et la courbe qui suit (VI), bâtie sur le mode habituel :

— en abscisse, les différentes dilutions,

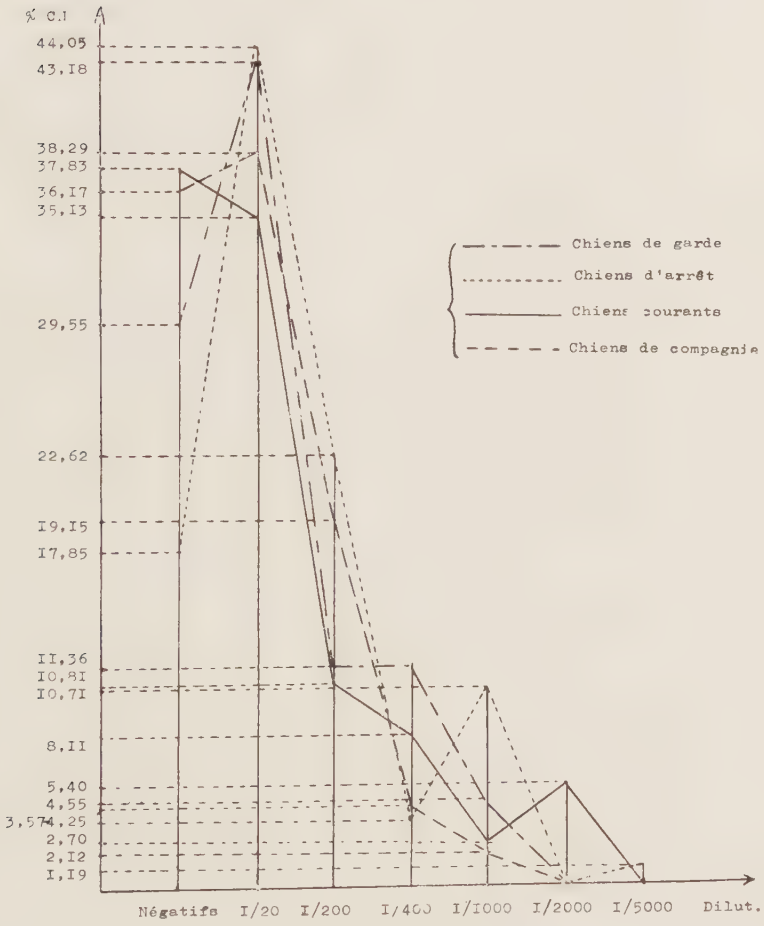
— en ordonnée, les pourcentages.

TABLEAU III

		Groupe I	Groupe II	Groupe III	Groupe IV
Négatifs	Total	13	17	15	14
	%	29,55	36,17	17,86	37,83
1/20e	Total	19	18	37	13
	%	43,18	38,29	44,05	35,13
1/200e	Total	5	9	19	4
	%	11,36	19,15	22,62	10,81
1/400e	Total	5	2	3	3
	%	11,36	4,25	3,57	8,11
1/1 000e	Total	2	1	9	1
	%	4,55	2,12	10,71	2,70
1/2 000e	Total	0	0	0	2
	%	0	0	0	5,40
1/5 000e	Total	0	0	1	0
	%	0	0	1,19	0
Total		44	47	84	37

Courbe VI

Degré de contamination en fonction du service.



Analyse des résultats

Le nombre des observations dans chaque groupe n'est pas suffisant pour qu'on puisse en tirer une analyse fine, mais le tableau et les courbes appellent tout de même quelques commentaires.

1° Le groupe le moins concerné par cette parasitose semble être celui réunissant les chiens de compagnie :

— 36,17 % de négatifs, taux nettement supérieur à la moyenne générale.

— En compensation, tous les pourcentages correspondant aux réactions positives sont diminués pour disparaître au-delà du 1/1 000e.

Nous pouvons essayer d'expliquer ce phénomène en invoquant le fait que ces animaux ne vivent généralement pas en groupe et qu'ils reçoivent dans leur alimentation de la viande cuite, ce qui diminue fortement les risques de contamination.

2° Les chiens de garde : ici, il faut interpréter avec prudence ces pourcentages, car une forte proportion de nos sérums provient de chiens de l'armée. Notre échantillon n'est donc pas forcément représentatif car ces animaux vivent en communauté. Quoi qu'il en soit :

— il y a déjà moins d'animaux négatifs que dans le groupe précédent : ici, 29,55 %, soit un taux encore supérieur à la moyenne cependant ;

— mais l'infection n'est pas très grave puisque 43,18 % sont positifs au 1/20e (taux supérieur à la moyenne). En conséquence, les autres pourcentages demeurent faibles et nous n'avons pas observé non plus de sérum dépassant une positivité au 1/1 000e.

Nous pouvons en conclure que ces chiens vivent normalement par unité, ce qui limite les risques de contamination ; mais ils sont censés consommer plus de viande crue que le groupe précédent, pour avoir plus de « mordant » !

3° Les chiens de chasse présentent des taux d'infestation nettement supérieurs :

— seulement 17,86 % des chiens d'arrêt ne connaissent pas cette parasitose ;

— seulement 35,13 % des chiens courants sont positifs au 1/20e ;

— en outre, les pourcentages de positivité à des dilutions supérieures sont beaucoup plus élevés que la moyenne : 22,62 % au 1/200e, 10,71 % au 1/1 000e

chez les premiers : 8,11 % au 1/400e, 5,40 % au 1/2 000e chez les seconds. On trouve même des sérums encore positifs au 1/5 000e.

Ces deux catégories sont donc plus exposées que les autres a présenter les symptômes d'une Toxoplasmose-maladie. La clinique confirme cette constatation. On peut expliquer le phénomène par le fait que ces animaux vivent en communauté et que les chiens de meute reçoivent dans leur alimentation une proportion non négligeable de viande crue plus ou moins salubre, provenant des clos d'équarrissage.

En conclusion, cette rapide étude nous permet de confirmer les données épidémiologiques de cette parasitose selon lesquelles deux facteurs essentiels interviennent dans la contamination :

— l'absorption de produits animaux crus et contaminés par les Toxoplasmes ;

— la promiscuité, qui favorise la transmission directe par contact, toujours possible, et indirecte en répandant dans le milieu extérieur le parasite qu'un hôte autre aura dans ces conditions de fortes chances de retrouver.

V. — *QUELQUES OBSERVATIONS COMPLEMENTAIRES.*

Affections pouvant être rattachées a une Toxoplasmose évolutive

1° *Affections de l'œil :*

Nous rapportons ici l'ensemble des examens de sérums que nous avons pratiqués sur des chiens hospitalisés en clinique de Médecine et présentant une affection quelconque de l'œil.

1. Beagle 2 ans : rétinochoroïdite atrophique bilatérale
   positif au 1/200e.
2. Epagneul breton 2 ans : choriorétinite gauche
   positif au 1/20e.
3. Epagneul breton 10 ans : mydriase, artères rétiniennes atrophiées, parésie
   positif au 1/1 000e.
4. Berger allemand 7 ans : blépharo-conjonctivite
   positif au 1/400e.
5. Epagneul breton 6 ans : cataracte
   positif au 1/20e.
6. Courant 10 ans : kératite pigmentaire
   positif au 1/200e.
7. Bleu d'Auvergne 4 ans : glaucome bilatéral
   positif au 1/200e.
8. Berger allemand 3 ans : amaurose
   négatif.
9. Berger allemand 4 ans : glaucome
   négatif.

Malgré le nombre réduit de nos observations, nous devons remarquer que seulement les deux dernières ne sont pas accompagnées d'une réaction sérologique positive. Deux autres donnent une réponse positive au 1/20e. Toutes les autres affections oculaires, soit plus de la moitié, sont acompagnées d'une positivité supérieure ou égale au 1/200e.

2° *Affections nerveuses :*

De la même façon, nous mentionnons ici tous les examens sérologiques effectués sur quelques sujets hospitalisés en clinique de Médecine pour troubles nerveux.

1. Beauceron 6 mois : troubles nerveux (?)
   positif au 1/200e.
2. Lévrier afghan 6 ans : troubles nerveux (?)
   positif au 1/200e.
3. Epagneul français 10 ans : crises d'épilepsie
   négatif.
4. Epagneul breton 5 ans : virose
   positif au 1/1 000e.
5. Braque allemand 5 ans : maladie de Carré
   positif au 1/1 000e.
6. Epagneul breton 3 mois : maladie de Carré
   négatif.
7. Courant 5 ans : maladie de Carré
   négatif.
8. Braque allemand 6 mois : maladie de Carré
   négatif.
9. Epagneul breton 2 ans et demi : maladie de Carré
   positif au 1/400e puis au 1/1 000e 15 jours plus tard.
   positif au 1/200e un mois après.
10. Setter irlandais 13 mois : maladie de Carré
    négatif.
11. Braque allemand 5 ans : troubles nerveux (?)
    positif au 1/5 000e.
12. Epagneul breton 4 mois : maladie de Carré
    positif au 1/400e.

Encore une fois, il est troublant de constater que seulement 5 sujets sur 12 sont négatifs à l'examen immunologique. Tous les autres y sont positifs au moins au 1/200e et atteignent même le 1/5 000e.

CONCLUSION : Ce ne sont là que des remarques mais qui nous ont semblé importantes dans la mesure où elles montrent bien que nous ne devons jamais oublier l'existence toujours possible d'une Toxoplasmose dans ces types d'affection.

Quelques cinétiques d'anticorps

Les observations suivantes nous permettent de suivre l'évolution des anticorps antitoxoplasmiques dans un organisme.

1. Berger allemand 8 ans : positif au 1/20e
   positif au 1/20e 2 mois après.
2. Braque allemand 6 ans : positif au 1/20e
   positif au 1/20e 1 mois après
   positif au 1/20e 2 mois après
3. Courant 2 ans : positif au 1/2 000e
   positif au 1/2 000e 15 jours après
   positif au 1/20e 1 mois 1/2 après.
4. Braque allemand 4 ans : positif au 1/200e
   positif au 1/1 000e 15 jours après.
5. Setter gordon 4 ans : positif au 1/200e
   positif au 1/1 000e 1 mois après.
6. Epagneul breton 2 ans 1/2 : positif au 1/400e
   positif au 1/1 000e 15 jours après
   positif au 1/200e 1 mois après.

Les deux premiers sujets présentent une positivité au 1/20e et qui se maintient au cours des différents prélèvements. Ces animaux ont donc eu un contact ancien ou très léger avec le Toxoplasme.

Les autres présentent une modification sensible du taux de leurs anticorps qui paraît le plus souvent en 15 à 45 jours et qui signifie :

— soit une infestation récente,

— soit une réinfestation permanente,

En bilan, en raison de l'extrême fréquence des réactions sérologiques positives, le diagnostic immunologique de la Toxoplasmose implique plusieurs prélèvements objectivant la variation du taux des anticorps. Une augmentation du simple au quadruple au moins est nécessaire pour être significative.

CONCLUSION

Le but de ce travail a été d'approfondir les possibilités du diagnostic sérologique de la Toxoplasmose canine par la méthode d'immunofluorescence. Cette technique est d'utilisation nouvelle au laboratoire de Parasitologie de l'Ecole Vétérinaire de Toulouse. Il était donc intéressant d'apporter des arguments montrant ce qu'on peut attendre d'elle dans la recherche de la Toxoplasmose du chien.

La sensibilité de la technique est excellente, mais il ne faut pas oublier qu'elle dépend de la richesse en anticorps du sérum, c'est-à-dire de l'immunisation des animaux qui le fournissent. Sa spécificité semble également idéale, mais il faut prendre garde aux réactions croisées, beaucoup plus fréquentes en immunofluorescence qu'avec les autres méthodes sérologiques. Cela semble en relation avec la grande sensibilité de la méthode, mais aussi avec le fait que la fixation rend disponible non seulement les antigènes superficiels, mais encore les antigènes profonds qui n'interviennent pas dans les autres réactions sérologiques. Enfin, c'est une réaction très précoce. Elle s'affirme donc, à l'heure actuelle, comme l'une des meilleures méthodes dont nous disposions pour le diagnostic sérologique de la Toxoplasmose ou l'étude des phénomènes immunologiques survenant au cours de cette affection.

L'enquête sérologique que nous avons effectuée permet certaines conclusions concernant l'espèce canine :

— grande fréquence de la contamination,

— pas de réceptivité particulière liée au sexe,

— le taux des animaux infestés augmente avec leur âge ainsi que l'intensité de cette infestation,

— enfin, les chiens de chasse sont les plus intéressés par cette parasitose.

Le chien représente donc pour l'espèce humaine, en

particulier pour la femme enceinte, qui transmet le parasite au fœtus, une source de contamination non négligeable. C'est une raison supplémentaire pour poursuivre l'étude de la Toxoplasmose canine, maladie de diagnostic difficile à laquelle les vétérinaires doivent toujours songer.

Ainsi, un agresseur sous-estimé, dont il faudra dorénavant compter les victimes, s'inscrit au bas de la longue liste que l'homme est sans doute condamné à compléter toujours sans l'arrêter jamais, parce qu'il y a, pensait Hamlet, bien plus de choses sur la terre et dans le ciel que dans toute la philosophie.

Vu : le Professeur de l'Ecole Veterinaire

A. BRIZARD

Vu le Directeur de l'Ecole Veterinaire

R. FLORIO

Vu : le Président de la Thèse

Mme LARENG

Vu et permis d'imprimer,
Toulouse, le 18 octobre 1971,
Le Président de
l'Université Paul-Sabatier

L. LARENG

BIBLIOGRAPHIE

1. Ambroise-Thomas (P.). — Etude séro-immunologique de dix parasitoses par les techniques d'immunofluorescence. Inst. Méd. Hyg. Trop. Lyon 1969.

2. Ambroise-Thomas (P.), Garin (J.P.) et Mlle Rigaud. — Amélioration de la technique d'immunofluorescence par l'emploi de contre-colorants : application à la Toxoplasmose. Presse Médicale, 1966, 74, 2215-2216.

3. Award (F.I.). — Lancet 1954, 267, 1055.

4. Bartorelli (C.) et Berengo (A.N.). — La Toxoplasmosi. Parte I : Medica Relazione al LXV Congresso della Soc. Ital. Med. Interna Roma, Ottobre 1964. Ed. Pozzi Roma 1964.

5. Blanc (G.) et Bruneau (J.). — Préparation d'un sérum animal neutralisant le virus de la Toxoplasmose. Arch. Inst. Pasteur Maroc, 1951, 4, 291.

6. Boisseau (M.), Moulinier (C.) et de Joigny (C.). — Immunofluorescence sur suspension de Toxoplasmes. Comparaison avec le test de lyse. Bull. Soc. Path. Exot. 1967, 60, 205-213.

7. Castellarri (A.). — Note on certain protozoal like bodies in cas of protracted fever with splenomegalie. J. Trop. Med. Hyg. 1914, 17, 113.

8. Chadwick (C.S.), Mc Entegart (M.G.) et Nairn (R.C.). — Fluorescent protein tracing, a simple alternative to fluorescein. Lancet 1958, 1, 412-414.

9. Chatton (E.) et Blanc (G.). — Notes et réflexions sur le Toxoplasme et la Toxoplasmose du Gondi. Arch. Inst. Pasteur Tunis 1917, 10, I. Réimp. Arch. Inst. Pasteur, Maroc, 1951, 4, 245.

10. Clayton (R.M.). — Localization of embryonic antigens by antisera labelled with fluorescent dyes. Nature 1954, 174 : 1059.

11. Coons (A.H.), Creech (H.J.) et Jones (R.N.). — Immunological properties of an antibody containing a fluorescent group. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1941, 47, 200-202.

12. Coons (A.H.). et Kaplan (M.H.). — Localisation of antigen in tissue cells. II. Improvement in method of detection of antigen by means of fluorescent antibody. J. Exp. Med. 1950, 91, 1-13.

13. Desmonts (G.). — Le rôle du laboratoire dans le diagnostic de la Toxoplasmose. Bull. Soc. Path. Comp. 1963, 752, 950.

14. Dubey (J.P.), Miller (N.L.). et Frenkel (J.K.). — Toxoplasma gondii Life Cycle in Cats : JAVMA, 157, 11, 1767-1770.

15. Eyles (D.E.). — 1956. Ann. N.Y. Acad. Sci., 64, 252

16. Garin (J.P.). — La Toxoplasmose humaine. Suppl. monographies médicales et scientifiques. N° 83, 1959.

17. Garin (J.P.) et Ambroise-Thomas (P.). — Le diagnostic sérologique de la Toxoplasmose par la méthode des anticorps fluorescents (technique indirecte). Presse Méd. 1963, 52, 2485-2488.

18. Giroud (P.). — Toxoplasmes et Toxoplasmose. Maroc Méd. 1963, 2, 451.

19. Goldman (M.). — Classification of Toxoplasma : Surv. of ophtal. 1961, 6, 700.

20. Goldman (M.). — Staining Toxoplasma gondii with fluorescein labelled antibody. II. A new serologic test for antibodies to Toxoplasma based upon inhibition of specific staining. J. Exp. Med. 1957, 105, 553-573.

21. Goldwasser (R.A.) et Shepard (C.C.). — Staining of complement and modification of fluorescent antibody procedures. J. Immunol. 1958, 80, 122-131.

22. Hoare (C.A.). — 1956. Vet. Rev. Annot. 2, 25.

23. Hutchison (W.M.) 1965. — Experimental transmission of Toxoplasma gondii. Nature (Lond.) 206, 961-962.

24. Hutchison (W.M.). — The nematode transmission of Toxoplasma gondii. 1967 Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 61, 80-89.

43,42

25. Jacobs (L.). — Toxoplasma and Toxoplasmosis. Arch. Parasit. 1967, 5, 1-45.

5

26. Jacobs (L.) et Lunde (M.N.). — 1957. J. Parasit. 43, 308.

27. Kramar (J.). — The fluorescent staining complement for the serodiagnosis of Toxoplasmosis. Folia Parasit. 1967, 14, 5-12.

28. Lainson (R.) — Trans. Royal Soc., Trop. Med. Hyg. 1954, 48, 5.

29. Lelong (M.). — Rapport sur la prophylaxie du nouveau-né et de la femme enceinte : Rev. Hyg. Méd. Soc., 1959, 7, 71.

30. Lelon (M.). et Desmonts (G.). — C.R. Soc. Biol. 1952, 146, 207.

31. Levaditi (C), Lepine (P.) et Schoen (R.). — L'immunité antitoxoplasmique. C.R. Soc. Biol. 1928, 99, 1130.

32. Levaditi (C.), Sanchis-Bayarri (V.), Lepine (P.) et Schoen (R.). — Etude sur l'encéphalomyélite provoquée par le Toxoplasma cuniculi. Ann. Inst. Pasteur 1929, 43, 673.

33. Ludwick (J.). — Morphology of Toxoplasma gondii in electronic microscope. Acta Soc. Zool. Bohemoslov, 1958, 22, 130.

34. Manwell (R.D.) et Drobeck (H.P.). — Journ. of Parasit. 1953, 39, 577.

35. Marak (J.). — Nature of antibodies. Nature 1934, 133, 292-293.

36. Mello (U.). — Un cas de Toxoplasmose canine observé à Turin. Bull. Soc. Path. Exot. 1910, 3, 359.

37. Mesnil (F.). — Réflexions sur le Toxoplasme et la Toxoplasmose du Gondi (Toxoplasma gondii, Nicolle et Manceaux 1909). Bull. Inst. Pasteur 1918, 16, 71.

38. Muhlpfordt (H.). — Zeitschrift für Tropen Medizin und Parasitologie 1951, 3, 205.

39. Nairn (R.C.). — Fluorescent protein tracing and the fluorescent antibody method. Endeavour 1961, 20, 78-84.

40. Nichols (R.L.) et Mc Comb (D.E.). — Immunofluorescence studies with trachoma and related antigens. J. Immunol. 1962, 82, 544-545.

41. Price (J.H.). — Toxoplasma infection in an urban community (Br. Med. J., 1969, 4, 141).

42. Riggs (J.L.), Seiwald (R.J.) and coll. — Isothiocyanate compounds as fluorescent labelling agents for immunserum. Amer. J. Path. 1958, 34, 1081-1097.

43. Sabin (A.B.) et Feldman (H.A.). — 1948. Science 108, 660

44. Sabin (A.B.) et Olitsky (P.K.). — Toxoplasma and obligate intracellular parasitism. Science 1937, 85, 336.

45. Sarrailhe (A.). — Note sur la Toxoplasmose expérimentale. Bull. Soc. Path. Exot. 1914, 7, 232.

46. Saurat (P.) et Chantal (J.). — L'immunofluorescence. Rev. Méd. Vét. 1966, 117, 3, 221-223.

47. Seguela (J.P.). — Résultats d'une étude sérologique de la Toxoplasmose dans la région toulousaine. Thèse Doct. Méd. Toulouse 1968.

48. Seguela (M.O.). — Etude sérologique de la Toxoplasmose humaine dans la région occidentale du Gers. Thèse Doct. Méd. Toulouse 1969.

49. Splendor (A.). — Sur un nouveau protozoaire parasite du lapin. Bull. Soc. Path. Exot. 1909, 2, 462.

50. Staub (A.M.), Raynaud (M.) et Deschiens (R.). — Immunité dans les maladies parasitaires. (Cours d'immunologie générale et de sérologie de l'Institut Pasteur, 1966, 7, 1-16.)

51. Vallée (A.). — La Toxoplasmose canine : état actuel de la question. Economie et Méd. Animales 1967, 8, N° 1.

52. Weller (T.H.) et Coons (A.H.). — Fluorescent antibody studies with agents of varicella and herpes zoster propagated *in vitro*. Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.) 1954, 86, 789-794.

53. Wolf (A.), Cowen (D.) et Paige (H.B.). — Human Toxoplasmosis : occurence in infants as a encephalomyelitis. Verification by transmission to animals. Science 1939, 80, 236.

54. Work (K.) and Hutchison (W.M.). — A new cystic form of Toxoplasma gondii. Acta Path. Microbiol. Scandinav. 1969, 75, 191-192.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION.

HISTORIQUE DE LA TOXOPLASMOSE.

PREMIERE PARTIE : LE TOXOPLASME ET LA TOXOPLASMOSE.

CHAP. I : *RAPPELS DE PARASITOLOGIE*
- Morphologie
- Localisation
- Biologie
- Position systématique

CHAP. II : *REPARTITION GEOGRAPHIQUE*

CHAP. III : *EPIDEMIOLOGIE*
- Les espèces atteintes
- Sensibilité
- La contamination

CHAP. IV : *PATHOGENIE*

CHAP. V : *ETUDE CLINIQUE DE LA TOXOPLASMOSE CHEZ LE CHIEN*
- La maladie congénitale
- La maladie acquise

CHAP. VI. : *DIAGNOSTIC DE LA TOXOPLASMOSE CHEZ LE CHIEN*
- Diagnostic clinique
- Diagnostic anatomo-pathologique
- Diagnostic parasitologique

CHAP. VII : *TRAITEMENT*

CHAP. VIII : *PROPHYLAXIE*

DEUXIEME PARTIE : L'IMMUNOFLUORESCENCE : APPLICATION AU DIAGNOSTIC DE LA TOXOPLASMOSE CHEZ LE CHIEN.

INTRODUCTION.

CHAP. I : *PRINCIPE DE L'IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE*

CHAP. II : *ETUDE DES DIFFERENTS ELEMENTS INTERVENANT DANS LA REACTION D'IMMUNOFLUORESCENCE*

L'antigène
Les sérums étudiés
Le conjugué
Le contre colorant

CHAP. III : *MODE OPERATOIRE DE LA REACTION D'IMMUNOFLUORESCENCE*

Réalisation du complexe de diagnostic
Réalisation du complexe fluorescent
Montage des lames

CHAP. IV : *INTERPRETATION DES RESULTATS*

Installations microscopiques
Lecture des lames

TROISIEME PARTIE : L'ENQUETE SEROLOGIQUE ET SES RESULTATS.

CHAP. I : *LE CADRE DE L'ENQUETE*

CHAP. II : *EVALUATION GLOBALE DE L'INCIDENCE DE LA TOXOPLASMOSE*

CHAP. III : *REPARTITION DE L'INFECTION TOXOPLASMIQUE EN FONCTION DE L'AGE*

CHAP. IV : *REPARTITION DE L'INFECTION TOXOPLASMIQUE EN FONCTION DE L'UTILISATION DES SUJETS*

CHAP. V : *QUELQUES OBSERVATIONS COMPLEMENTAIRES*

AFFECTIONS POUVANT ETRE RATTACHÉES A UNE TOXOPLASMOSE ÉVOLUTIVE

QUELQUES CINÉTIQUES D'ANTICORPS

CONCLUSION.

BIBLIOGRAPHIE.